

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní obor:

Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Zuzana Zenáhlíková

**TROMBOFILIE A TROMBOTICKÉ
KOMPLIKACE U NEMOCNÝCH SE
ZÁVAŽNOU SEPSÍ**

*Thrombophilia and thrombotic complications in severe septic
patients*

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce: Prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.

Praha 2013

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 24. 2. 2013

Zuzana Zenáhlíková

Identifikační záznam

ZENÁHLÍKOVÁ, Zuzana. *Trombofilie a trombotické komplikace u nemocných se závažnou sepsí. [Thrombophilia and thrombotic complications in severe septic patients]*. Praha, 2013. 99 s. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, CHL a Trombotické centrum ÚKBLD VFN. Vedoucí práce prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.

Poděkování

Tato práce vznikla v rámci doktorského studijního programu biomedicíny na pracovišti Trombotického centra a Centrálních hematologických laboratoří Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice (VFN) ve spolupráci s 1. chirurgickou klinikou VFN v Praze. Velmi ráda bych poděkovala a vyslovila uznání všem, kteří mi přispěli ke vzniku této práce.

Poděkování patří především Prof. MUDr. Janu Kvasničkovi DrSc., mému školiteli, za odborné vedení studia. Dále děkuji všem kolegyním a kolegům z Trombotického centra za všestrannou pomoc v průběhu celé studie a při zpracování jejích výsledků. Velmi děkuji za spolupráci všem lékařům a sestrám z JIP I. chirurgické kliniky VFN a jejímu přednostovi Prof. MUDr. Zdeňku Krškovi, CSc. za možnost provádět studii na tomto pracovišti a za zajištění klinického sledování a pravidelného odběru krevních vzorků pacientů. Další dík patří všem pracovníkům Centrálních hematologických laboratoří za laboratorní zpracování vzorků a cenné rady a připomínky, které mi pomohly k vypracování sekce Laboratorní metody. Taktéž bych ráda poděkovala své rodině, zejména manželovi a rodičům za jejich podporu při mém studiu.

Práce vznikla za podpory výzkumného záměru Ministerstva zdravotnictví ČR VZMZ0VFN2005.

Abstrakt

Úvod: Trombotické příhody patří mezi nejzávažnější komplikace v průběhu sepse a k nejčastějším příčinám mortality a morbidit nemocných se sepsí. K profylaxi těchto komplikací je v současné době u pacientů se závažnou sepsí doporučeno podávání nízkomolekulárních heparinů (LMWH). Tato profylaxe však často selhává.

Cíle studie: Jedním z cílů naší studie bylo sledovat změny hemostázy ve vztahu k zánětlivé reakci v průběhu patnácti dní závažné sepse. Dalším úkolem bylo zjistit, zda u těchto pacientů dochází ke správné profylaktické inhibici faktoru Xa (F Xa) v rozmezí 0,2–0,4 IU/ml, pokud je u nich prováděna doporučená profylaxe LMWH. Zároveň jsme zaznamenávali i dynamiku změn inhibice F Xa v průběhu celého sledovaného období. Také jsme se pokusili identifikovat faktory, které mohou ovlivnit antitrombotickou účinnost subkutánně podávaného enoxaparinu.

Soubor pacientů a metody: Do studie bylo zařazeno 35 pacientů jednotky intenzivní péče (JIP) splňujících kritéria závažné sepse. Pouze 16 z nich bylo možno sledovat po celou dobu patnácti dní. Pacienti byli léčeni dle současných doporučení, včetně profylaxe LMWH, k této studii byl použit enoxaparin (40 mg/den). Sledování a odběry žilní krve pro laboratorní vyšetření proběhly 1., 2., 3., 6., 9., 12. a 15. den hospitalizace na JIP. Z odebraných vzorků byla prováděna laboratorní vyšetření markerů koagulace (včetně vyšetření inhibice F Xa) a zánětlivé reakce.

Výsledky: Maximální zánětlivá a prokoagulační odpověď byla nalezena prvé 3 dny sledování, dále již dochází poklesu laboratorních markerů, jsou však stále významně vyšší než normální laboratorní hodnoty. Subkutánní podávání enoxaparinu vedlo k dosažení žádaného profylaktického rozmezí ve 20 % provedených vyšetření. Účinek enoxaparinu pozitivně koreloval především s hodnotami aktivity inhibitorů koagulace proteinu C (PC) a antitrombinu (AT).

Závěr: Těžká sepsa je spojena s extrémním, zánětem indukovaným protrombotickým stavem. V současné době doporučované schéma profylaxe TEN však u některých pacientů nevede k náležité inhibici F Xa. Bylo by vhodné u kriticky nemocných pacientů se sepsí monitorovat prováděnou profylaxi s LMWH a dávkování upravit dle výsledků vyšetření inhibice F Xa s přihlédnutím k aktuálním hodnotám inhibitorů koagulace AT a PC.

Klíčová slova: Sepsa; Hemostáza; Nízkomolekulární heparin; Jednotka intenzivní péče, Žilní tromboembolismus

Abstract

Introduction: Thrombotic events are among the most serious complications of sepsis and also the most frequent causes of morbidity and mortality in patients with sepsis. Currently, the administration of low molecular weight heparins (LMWH) is recommended in patients with severe sepsis for prophylaxis of these complications. However, this prophylaxis often fails.

Objectives of the study: One of the objectives of our study was to examine changes in haemostasis in relation to the inflammatory response during 15 days of severe sepsis. The next objective was to determine whether a prophylactic inhibition of F Xa in the range from 0.2 to 0.4 IU/mL is achieved in these patients, if they receive the recommended prophylaxis with LMWH. We also recorded the dynamics of changes in the F Xa inhibition during the entire study period. Moreover, we tried to identify the factors that may affect the antithrombotic efficacy of the subcutaneously administered enoxaparin.

Patient population and methods: A total of 35 ICU patients meeting the criteria of severe sepsis were enrolled in the study. Only 16 of these patients could be followed throughout the entire 15-day period. Patients were treated according to the current guidelines, including LMWH prophylaxis; enoxaparin (40 mg sc per day) was used in this study. Monitoring and venous blood sampling was performed on days 1, 2, 3, 6, 9, 12 and 15 of hospitalization at the ICU. The samples collected were used for laboratory tests of blood coagulation markers (including examination of the F Xa inhibition) and inflammatory reactions.

Results: Peak inflammatory and pro-coagulation response was recorded during the first 3 days of monitoring, thereafter the values of the laboratory markers began decreasing, but they are still significantly higher than normal laboratory values. Subcutaneous administration of enoxaparin led to the achievement of the desired prophylactic range in 20 % of the tests performed. The effect of enoxaparin positively correlated in particular with the level of activity of blood coagulation inhibitors, protein C (PC), and antithrombin (AT).

Conclusion: Severe sepsis is associated with an extreme, prothrombotic condition induced by inflammation. However, the currently recommended prophylaxis of TED fails to achieve adequate inhibition of F Xa in some patients. In critically ill patients with sepsis, it would be beneficial to monitor the prophylaxis with LMWH and

adjust the dosage according to the results of the F Xa inhibition tests, while also considering the current levels of coagulation inhibitors, AT and PC.

Keywords: Sepsis, Haemostasis, Low Molecular Weight Heparin; Intensive Care Unit, Venous Thromboembolism

Obsah

1. Úvod.....	13
1.1. Historie poznatků o sepsi	13
1.2. Epidemiologie sepse	14
1.3. Definice sepse	16
<i>Obrázek č. 1: Sepse, infekce, SIRS</i>	<i>17</i>
<i>Tabulka č. 1: Kritéria SIRS, 2001</i>	<i>19</i>
1.4. Patofyziologie imunitní reakce v průběhu septického onemocnění	20
<i>Obrázek č. 2: SIRS, CARS, MARS</i>	<i>23</i>
1.5. Patofyziologie hemostázy v průběhu sepse	24
<i>Obrázek č. 3: Vzájemné interakce zánětlivé a koagulační odpovědi</i>	<i>25</i>
1.5.1. Zvýšená tvorba trombinu.....	26
1.5.2. Dysfunkce inhibice koagulace.....	26
1.5.3. Porušená fibrinolýza	27
1.5.4. Vzájemný vztah zánětlivé a koagulační odpovědi	27
1.6. Tromboembolické komplikace u pacientů se sepsí	28
1.6.1. Doporučení pro profylaxi tromboembolických komplikací u pacientů se sepsí	29
1.6.2. Nízkomolekulární hepariny	30
<i>Obrázek č. 4: Mechanismus účinku LMWH</i>	<i>31</i>
1.6.3. Úskalí farmakologické profylaxe TEN u pacientů se sepsí.....	32
1.6.4. Možné příčiny nedostatečného efektu LMWH u pacientů se sepsí.....	33
2. Cíle studie.....	35
2.1. Dynamika změn hemostázy ve vztahu k zánětlivé reakci organismu v průběhu závažné sepse.....	35

2.2.	Inhibice faktoru Xa při doporučené profylaxi subkutánně podávaným LMWH.....	36
2.3.	Vliv vybraných parametrů na efekt subkutánně podávaného nízkomolekulárního heparinu	36
2.4.	Vzájemný vztah závažnosti klinického stavu pacienta a vybraných parametrů hemostázy a zánětlivé reakce.....	37
	<i>Tabulka č. 2: APACHE II – hodnocené parametry</i>	<i>38</i>
	<i>Tabulka č. 3: SAPS II – hodnocené parametry</i>	<i>39</i>
	<i>Tabulka č. 4: SOFA –hodnocené orgánové systémy a sledované parametry</i>	<i>40</i>
3.	Použité metody.....	41
3.1.	Výběr pacientů	41
3.2.	Léčba a profylaxe TEN	42
3.3.	Klinické a laboratorní sledování	42
3.4.	Laboratorní metody.....	43
	<i>Tabulka č. 5: Normální laboratorní hodnoty</i>	<i>46</i>
3.5.	Statistické metody.....	47
4.	Výsledky.....	48
4.1.	Soubor pacientů	48
	<i>Tabulka č. 6: Charakteristika pacientů, demografická data a přidružená onemocnění</i>	<i>49</i>
	<i>Tabulka č. 7: Rizikové faktory tromboembolické nemoci</i>	<i>51</i>
4.2.	Dynamika změn hemostázy ve vztahu k zánětlivé reakci organismu v průběhu závažné sepsy.....	52
4.2.1.	Pozitivní proteiny akutní fáze.....	52
4.2.1.1.	CRP	52
	<i>Tabulka č. 8: Změny koncentrace proteinů akutní fáze u pacientů se závažnou sepsí v průběhu 15 dní</i>	<i>53</i>
	<i>Obrázek č. 5: Krabicový graf – změny koncentrace C-reaktivního proteinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP</i>	<i>54</i>
4.2.1.2.	Alfa-1-antitrypsin	54

<i>Obrázek č. 6 : Krabicový graf – změny koncentrace alfa-1-antitrypsinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP.....</i>	55
4.2.1.3. Orosomukoid.....	56
<i>Obrázek č. 7: Krabicový graf – změny koncentrace orosomukoidu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP</i>	56
4.2.2. Negativní proteiny akutní fáze	57
4.2.2.1. Transferin	57
<i>Obrázek č. 8: Krabicový graf – změny koncentrace transferinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP.....</i>	57
4.2.2.2. Prealbumin	58
<i>Obrázek č. 9: Krabicový graf – změny koncentrace prealbumin u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP</i>	58
4.2.3. Interleukin 6.....	59
<i>Tabulka č. 9 : Změny koncentrace interleukinu 6 u pacientů se závažnou sepsí v průběhu 15 dní</i>	59
<i>Obrázek č. 10: Krabicový graf – změny koncentrace interleukinu 6 u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP</i>	60
4.2.4. Markery hemostázy	60
4.2.4.1. D-dimer	60
<i>Tabulka č. 10: Dynamika změn koagulačních markerů u pacientů se závažnou sepsí v průběhu 15 dní</i>	61
<i>Obrázek č. 11: Krabicový graf – změny koncentrace D-dimeru u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP</i>	62
4.2.4.2. Fibrinogen	62
<i>Obrázek č. 12: Krabicový graf – změny koncentrace fibrinogenu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP</i>	63
4.2.4.3. F 1+2 fragmenty protrombinu	63
<i>Obrázek č. 13: Krabicový graf – změny koncentrace protrombinových fragmentů F 1+2 u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP</i>	64
4.2.4.4. Protein C.....	64
<i>Obrázek č. 14: Krabicový graf – změny aktivity proteinu C u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP.....</i>	65
4.2.4.5. Antitrombin	65
<i>Obrázek č. 15: Krabicový graf – změny aktivity antitrombinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP</i>	66
4.2.5. Cytoadhezivní molekuly.....	66

4.2.5.1.	s ICAM-1.....	66
	<i>Tabulka č. 11: Dynamika změn koncentrace cytoadhezivních molekul pacientů se závažnou sepsí v průběhu 15</i>	67
	<i>Obrázek č. 16: Krabicový graf – změny koncentrace sICAM u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP.....</i>	68
4.2.5.2.	sP-selektin	68
	<i>Obrázek č. 17: Krabicový graf – změny koncentrace P-selektinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP</i>	69
4.2.5.3.	sE-selektin	69
	<i>Obrázek č. 18: Krabicový graf – změny koncentrace E-selektinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP</i>	70
4.3.	Inhibice faktoru Xa při doporučované profylaxi subkutánně podávaným LMWH.....	70
	<i>Obrázek č. 19: Bodový graf – inhibice faktoru Xa (měřeno 4 hodiny po s.c. aplikaci enoxaparinu) u pacientů se závažnou sepsí v průběhu 15t denního sledování</i>	71
	<i>Tabulka č. 12: Změny inhibice F Xa v průběhu 15 dní u pacientů se závažnou sepsí</i>	72
	<i>Obrázek č. 20: Krabicový graf – změny inhibice F Xa u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP.....</i>	73
4.4.	Vliv vybraných parametrů na efekt subkutánně podávaného nízkomolekulárního heparinu	73
	<i>Obrázek č. 21: Graf lineární regrese – vztah inhibice F Xa a aktivity antitrombinu.....</i>	74
	<i>Obrázek č. 22: Graf lineární regrese – vztah inhibice F Xa a aktivity proteinu C</i>	75
	<i>Obrázek č. 23: Graf lineární regrese – vztah inhibice F Xa a koncentrace prealbuminu</i>	76
	<i>Obrázek č. 24: Graf lineární regrese – vztah inhibice F Xa a koncentrace fragmentů protrombinu F 1+2.....</i>	77
	<i>Obrázek č. 25: Graf lineární regrese – vztah inhibice F Xa a koncentrace alfa-1-antitrypsinu ve skupině pacientů s hladinou alfa-1-antitrypsinu vyšší než 2,2 g/l.....</i>	78
4.5.	Vzájemný vztah závažnosti klinického stavu pacienta a vybraných parametrů hemostázy a zánětlivé reakce.....	79
4.5.1.	Vztah hemostázy a klinického stavu pacienta	79

Tabulka č. 13: Vztah klinických skórovacích systémů a parametrů hemostázy

..... 80

4.5.1. Vztah zánětlivé reakce, aktivace endotelu a klinického stavu pacienta ... 80

Tabulka č. 14: Vztah klinických skórovacích systémů a koncentrace proteinů

akutní fáze, interleukinů a cytoadhezivních molekul 81

5. Diskuze..... 82

6. Závěr..... 86

7. Seznam použité literatury 88

8. Seznam použitých zkratk..... 97

1. Úvod

1.1. Historie poznatků o sepsi

Pojem sepse byl používán již po staletí. Již v roce 2735 př.n.l. čínský vládce Sheng Nung psal o bylinkách léčících horečku způsobenou sepsí. V době Hippokratově se na sepsi pohlíželo jako na proces nebezpečného páchnoucího biologického rozkladu nebo hniloby. Aristoteles a pozdější Římané poukazovali, že proces sepse vznikl jako následek produkce živých tvorů, kteří se zrodili v hnilobných parách nazývaných miasmata. Takováto teorie „spontánní generace“ mikroorganismů přetrvávala po staletí (1).

V roce 1684 zpochybnil teorii spontánní generace Francisco Redi svým pokusem, kde prokázal přenos hniloby hmyzem. Další významný krok k poznání sepse udělal v roce 1841 Ignaz Semmelweis. Všiml si, že matky ošetřené při porodu porodní bábou trpěly méně často horečkou než ty, které ošetřil lékař. A také zaznamenal, že lékař pitvající ženu, která podlehl puerperální horečce, zemřel, poté co se při pitvě pořezal. Zavedl prevenci mytím rukou před kontaktem s pacienty a toto opatření vedlo k významnému poklesu incidence horečky omladnic. Nicméně, Semmelweisova teorie nebyla lékařskou společností ve své době přijata. Až Pasteurův experiment v roce 1859 konečně vyvrátil teorii spontánní generace. Koch později popsal etiologická agens celé řady infekčních onemocnění a potvrdil teorii mikrobiálního původu onemocnění. Na podkladě těchto principů Joseph Lister upozornil na nezbytnost používání antiseptických technik, které snížily perioperativní mortalitu. V roce 1892 William Osler prvně prezentoval definici septikemie jako horečku, infekci rány, teplotu 103-104°F; saepemii jako septickou intoxikaci doprovázenou horečkou, rychlým pulsem a deliriem; progresivní septikemii jako septickou intoxikaci, organismy v krvi, horečku, puls nad 120 tepů za minutu, delirium, a apatii; a pyemii jako diseminovaný absces s přítomností mikroorganismů v krvi, nekrózu malých tepen, rekurentní zimnici, horečku. Důležitým momentem

v boji proti infekčním onemocněním hrál poznatek sira Alexandra Fleminga, že určité plísňe mohou být pro bakterie toxické. Vedl k objevu penicilinu a rozvoji moderní antibiotické terapie (1).

Ke konci 20. století se pozornost zaměřila nejen na výzkum roli patogenních mikroorganismů, ale i na úlohu hostitelského organismu a jeho odpovědi na přítomnost infekce. Teorii systémové zánětlivé reakce organismu podpořil i objev takzvaných zánětlivých mediátorů. V posledních deseti letech byl udělán velký pokrok v porozumění molekulárním signálním cestám a identifikována řada genů, které ovlivňují proces buněčné odpovědi. (1)

1.2. Epidemiologie sepse

Sepse, a zejména její těžké formy, jsou významným celospolečenským problémem.

Celosvětově je dokumentováno 1,8 milionů případů sepse ročně, ale toto číslo je nepřesné vzhledem k obtížnosti její diagnostiky v celé řadě zemí.

Ve Spojených státech byla v roce 1995 incidence těžké sepse odhadována na 3 případy na 1000 obyvatel za rok, tedy celkem více než 750 000 ročně (2). Na základě tohoto údaje byl v rámci kampaně *Surviving Sepsis Campaign* (3) odhadnut skutečný celosvětový počet případů sepse na 18 milionů ročně.

Také incidence sepse v evropských zemích je vysoká. Ve Francii byl v roce 2001 zjištěn výskyt závažné sepse u 14,6 % pacientů na jednotkách intenzivní péče (JIP) (4).

Výskyt septických onemocnění se dále zvyšuje a předpokládá se další nárůst především kvůli řadě faktorů - stárnutí populace, rostoucí výskyt infekce HIV/AIDS, používání imunosupresivní terapie po transplantacích, používání implantátů, agresivní chemoterapie nádorových onemocnění, počet invazivních chirurgických výkonů... Jedním z důvodů vzestupu incidence sepse a přidružených stavů je jistě i zkvalitnění péče o pacienty, které umožnilo přežít

akutní fázi po těžkém inzultu. Vytvořil se tak prostor pro odpověď organismu, která může za jistých okolností vést právě k orgánovému selhávání.

Martin et al. (5) zaznamenal vzestup incidence sepse v letech 1979–2000 o 8,5 % ročně, tedy z 82,7/100 tisíc obyvatel v roce 1979 na 240,4/100 tisíc obyvatel v roce 2000. Trend incidence sepse je v Evropě podobný. Byl zjištěn vzestup frekvence z 7/100 příjmů v 1993 na 9,7 v 2000 (6). Další nárůst výskytu septických onemocnění se předpokládá i v dalších letech, asi o 1,5 % ročně (2).

Celková úmrtnost při sepsi je odhadována na 28,6 %, tedy 215 000 úmrtí za rok. To znamená 9,5 % všech úmrtí v USA a mortalita je tedy srovnatelná s úmrtností na infarkt myokardu (2). Také výsledky studie PROWESS (7) prokázaly celkovou mortalitu pacientů ve skupině léčené placebem 30,8 %. U pacientů s těžším stupněm sepse (tj. vstupní APACHE II / Acute Physiology And Chronic Health Evaluation score/ skóre ≥ 25 nebo vstupní stav charakterizovaný dysfunkcí nejméně dvou orgánů) zemřelo 44 % léčených placebem. U pacientů s nižším stupněm sepse (APACHE II < 25 , bez orgánového selhávání) byla celková mortalita v kontrolní skupině 22,3 %.

Vývoj úmrtnosti na septická onemocnění v Evropě má klesající tendenci – z 62,1 % (r. 1993) na 55,9 % (r. 2000) (6). Tato snižující se mortalita může být způsobena změnou definice sepse, včasnější detekcí a léčbou probíhající infekce nebo lepší podpůrnou terapií.

Zastoupení etiologických agens se v posledních desetiletích změnilo. Zatím co v 70. letech minulého století dominovaly gramnegativní (G^-) bakterie, od roku 1987 se dominantním etiologickým agens staly grampozitivní (G^+) bakterie. Významně vzrostlo také zastoupení mykotických infekcí (5).

Náklady na léčbu sepse jsou obvykle obrovské – v našich podmínkách dosahují řádu statisíců korun, ale vzácností nejsou ani náklady několikamilionové (8). Průměrná cena léčby na jednoho pacienta činila 22100 amerických dolarů (USD), tedy 16,7 bilionů USD ročně. V některých univerzitních centrech ale dosahovala průměrně až 244 239 USD, přesto tento

signifikantní rozdíl v nákladech měl jen malý vztah ke klinickým výsledkům (9).

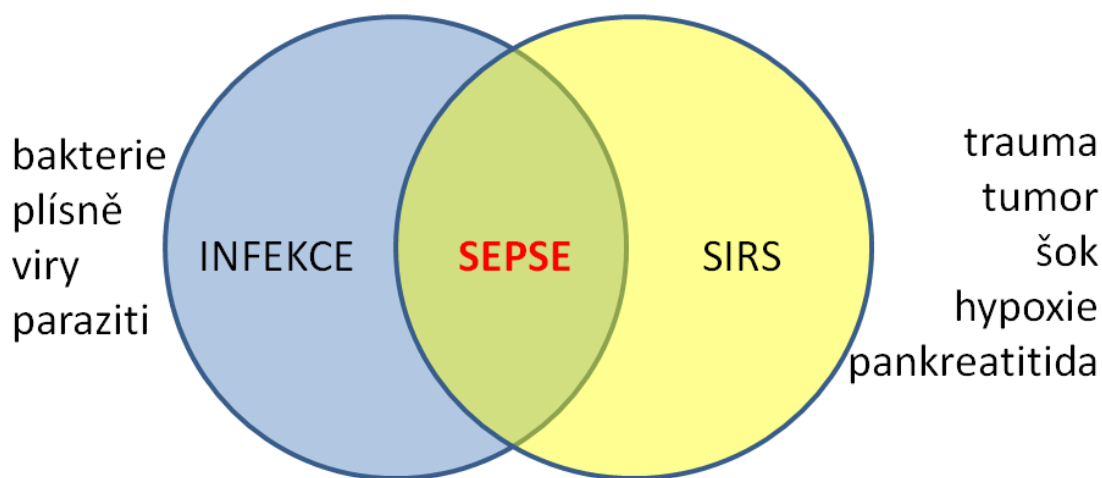
Jedním z mnoha důvodů, proč je terapie sepse přes vysoké náklady na léčbu a ošetřování nemocných na JIP stále málo úspěšná, je fakt, že dosud nejsou známy všechny příčiny jejího vzniku a mechanismus selhání homeostatických systémů v lidském organismu, ke kterým při sepsi dochází.

1.3. Definice sepse

Slovo seps pochází z řeckého „sepsios“, což lze přeložit jako shnilý. Původně byla seps označována jako přítomnost bakterií v krvi a pojmy seps a septikémie byly často zaměňovány. Pro zavádění nových léčebných postupů bylo nutné z hlediska „medicíny založené na důkazech“ provádět velké kontrolované randomizované studie. Aby mohly být vzájemně srovnávány, je nutné používat jednotné definice a skórovací systémy. Z tohoto důvodu bylo na konferenci „ACCP/SCCM Consensus Conference Committee“ v roce 1992 navržena jednotná nová definice sepse (10).

Seps byla definována jako systémová zánětlivá odpověď organismu (SIRS – systemic inflammatory response syndrome) na přítomnou infekci (obr. č. 1).

Obrázek č. 1: Sepse, infekce, SIRS



Vzájemný vztah pojmů infekce, SIRS (syndrom systémové zánětlivé odpovědi organismu) a sepse (upraveno podle Bone et al. 1992) (10).

SIRS je uniformní reakce organismu na různé noxy. K diagnostice SIRS je nutná přítomnost minimálně 2 ze 4 následujících kritérií: teplota $< 36^{\circ}\text{C}$, nebo $> 38^{\circ}\text{C}$; srdeční akce > 90 stahů/min; tachypnoe $s > 20$ vdechy/min; počet leukocytů $> 12 \times 10^9/l$ nebo $< 4 \times 10^9/l$. Tyto změny musí být akutní a nesmí být projevem jiného onemocnění, které je známou příčinou těchto odchylek.

Infekce byla vymezena jako patologický proces způsobený invazí patogenních nebo potencionálně patogenních mikroorganismů do normálně sterilních tkání. Průkaz může být dán bakteriologickou kultivací např. z krve, sterilně odebrané moči, punkcí dutin, bronchoalveolární laváží apod.

Těžká seps byla definována jako seps spojená s orgánovou dysfunkcí a známkami hypoperfúze nebo sekundární hypotenze, jež tato definice blíže

nespecifikuje. Proto jsou v klinických studiích a publikacích užívána zpřesňující kritéria (8). Orgánové selhávání s hypoperfúzí je charakterizováno laktátovou acidózou ($\text{pH} \leq 7,3$; laktát $> 2,3 \text{ mmol/l}$) a/nebo oligurií ($\leq 0,5 \text{ ml/kg/h}$ po dobu nejméně 2 hodin) a/nebo poklesem trombocytů pod 100×10^9 a/nebo plicní dysfunkcí hodnocenou poklesem indexu $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 33,3 \text{ kPa}$ (PaO_2 – parciální tlak kyslíku v arteriální krvi, FiO_2 – frakční koncentrace kyslíku ve vdechovaném vzduchu, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ – hypoxemický index). Hypotenze musí být následkem sepse a diagnostikujeme ji jako pokles systolického tlaku $< 90 \text{ mm Hg}$, pokles středního tlaku $< 60 \text{ mm Hg}$ nebo pokles výchozího tlaku o více než 40 mm Hg po dobu minimálně 2 hodin.

Septický šok vzniká další progresí těžké sepse. Je definován jako těžká hypotenze, hypoperfúze a orgánová dysfunkce i přes adekvátní resuscitaci infúzní terapií. Ani zde nebyl přesněji definován pojem „adekvátní resuscitace infúzní terapií“. V klinických studiích bývá obvykle považován za těžkou hypotenzi stav, kdy je nutné po doplnění objemu podávat k udržení systolického tlaku $> 90 \text{ mm Hg}$ nebo středního tlaku $> 60 \text{ mm Hg}$ noradrenalin v jakékoli dávce nebo dopamin $> 5 \mu\text{g/kg/min}$ (8).

V roce 2001 se znovu sešla skupina expertů „SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference“ (11). Cílem setkání bylo přehodnocení původní definice sepse a přidružených stavů a příprava návrhů jejich změn. Byl ponechán původní koncept definice sepse z roku 1992. Vzhledem ke skutečnosti, že kritéria SIRS byla podle většiny expertů málo specifická, příliš senzitivní a prakticky je splní každý pacient sledovaný na JIP (12), rozšířila kritéria pro SIRS (tab. č. 1).

Tabulka č. 1: Kritéria SIRS, 2001

<i>Kritéria SIRS</i>
teplota < 36 °C, nebo > 38,3 °C
tachypnoe s > 30 vdechy /min
výdej moči < 0,5 ml/kg/h nebo < 45 ml/h během 2h
leukocyty > 12 x 10 ⁹ /l či < 4 x 10 ⁹ /l
vzestup kreatininu > 45 µmol/l
otoky nebo pozitivní bilance tekutin
hyperglykémie > 7,7 mmol/l (při nepřítomnosti DM)
CRP > 2 směrodatné odchylky nad normu
prokalcitonin > 2 směrodatné odchylky nad normu
hypotenze (systolický tlak < 90 mm Hg, střední tlak < 70 mm Hg, pokles systolického tlaku o > 90mm Hg)
pokles kapilárního návratu, nebo mramorovaná periferie
srdeční index > 3,5 l/min/m ²
PaO ₂ /FiO ₂ < 300 mm Hg
srdeční akce > 90/min
porucha duševního stavu
INR > 1,5 nebo aPTT > 60 s
ileus (poslechově)
trombocyty < 100 x 10 ⁹ /l
bilirubin > 70 µmol/l
laktát > 3 mmol/l
saturace O ₂ venózní krve > 70 %

CRP – C-reaktivní protein, INR– international normalized ratio, aPTT – aktivovaný parciální tromboplastinový čas, PaO₂ – parciální tlak kyslíku v arteriální krvi, FiO₂ – frakční koncentrace kyslíku ve vdechovaném vzduchu, PaO₂/FiO₂ – hypoxemický index

Podle nové definice postačuje pouze silné podezření na infekci bez jejího mikrobiologického průkazu, pokud je situace klinicky jasná, např. přítomnost

stolice v dutině břišní během operace, rána s hnisavou sekrecí nebo jasný klinický nález bronchopneumonie.

Definice těžké sepse jako sepse spojené s orgánovou dysfunkcí, zůstala nezměněna a pro posouzení stupně závažnosti orgánové dysfunkce byl doporučen skórovací systém SOFA (Sequential Organ Failure Assessment score) (13).

Definice SIRS patří k často diskutovaným tématům. Především je kritizována nespecifičnost a velká senzitivita diagnostických kritérií SIRS. Na rozdíl od původních 4 kritérií je současný seznam složitý a zařazuje do diagnostických kritérií sepse i příznaky orgánové dysfunkce, která patří již do těžké sepse.

1.4. Patofyziologie imunitní reakce v průběhu septického onemocnění

Za sepsi je dnes obecně považován patologický stav způsobený nepřiměřenou a neregulovanou reakcí organismu na infekci. Zůstává stále záhadou, jak bude probíhat u konkrétního jedince odpověď na infekci. Rozsah a intenzita jsou zajisté významně ovlivněny predispozičními faktory (věk, pohlaví, přidružená onemocnění, genetická výbava), místem infekce a množstvím mikroorganismů či jejich virulencí. Důležité jsou také iatrogenní mechanismy, kupříkladu nešetrný režim umělé plicní ventilace u pacienta s akutním plicním postižením. Hlavní roli v patogenezi sepse nehraje samotné patologické agens, ale přemrštěná imunitní odezva organismu na něj (14). Dostatečná a komplexní imunologická odpověď zajišťuje promptní ochrannou reakci na mikrobiální invazi. I přesto, že aktivace imunitního systému je při mikrobiální invazi obecně ochranná, v přítomnosti generalizované odpovědi se výhody imunitního systému stávají neprospěšnými a vedou k tkáňovému poškození (15).

Z reakcí imunitního systému a změn hemostázy jsou zatím známé informace převážně jen o těch změnách, ke kterým dochází v tzv. „časně“ fázi

odpovědi organismu na sepsi. Avšak o změnách, ke kterým dochází v pozdějším období a které mohou končit zhroucením životně důležitých systémů, včetně multiorgánové dysfunkce, je zatím známo poměrně málo.

Klíčovou roli v rozpoznání patogenu hrají makrofágy. Jsou prvními buňkami imunitního systému, které se dostávají do kontaktu s patogenem. Hrají tedy zásadní roli v regulaci zánětlivé odpovědi. Buňky vrozené imunity rozpoznávají mikroorganismus a zahájí odpověď cestou skupiny toll-like receptorů (TLR) (16, 17). TLR patří do skupiny receptorů rozpoznávajících bakteriální komponenty včetně lipopolysacharidu (endotoxinu) bakterií, lipopeptidů buněčné stěny G^+ bakterií, bakteriální DNA či prvků (18). Toll-like receptory spouštějí intracelulární signální cesty, které vedou k aktivaci nukleárního faktoru kappa B, pod jehož vlivem dochází k transkripci řady genů zahrnutých do zánětlivé odpovědi (19).

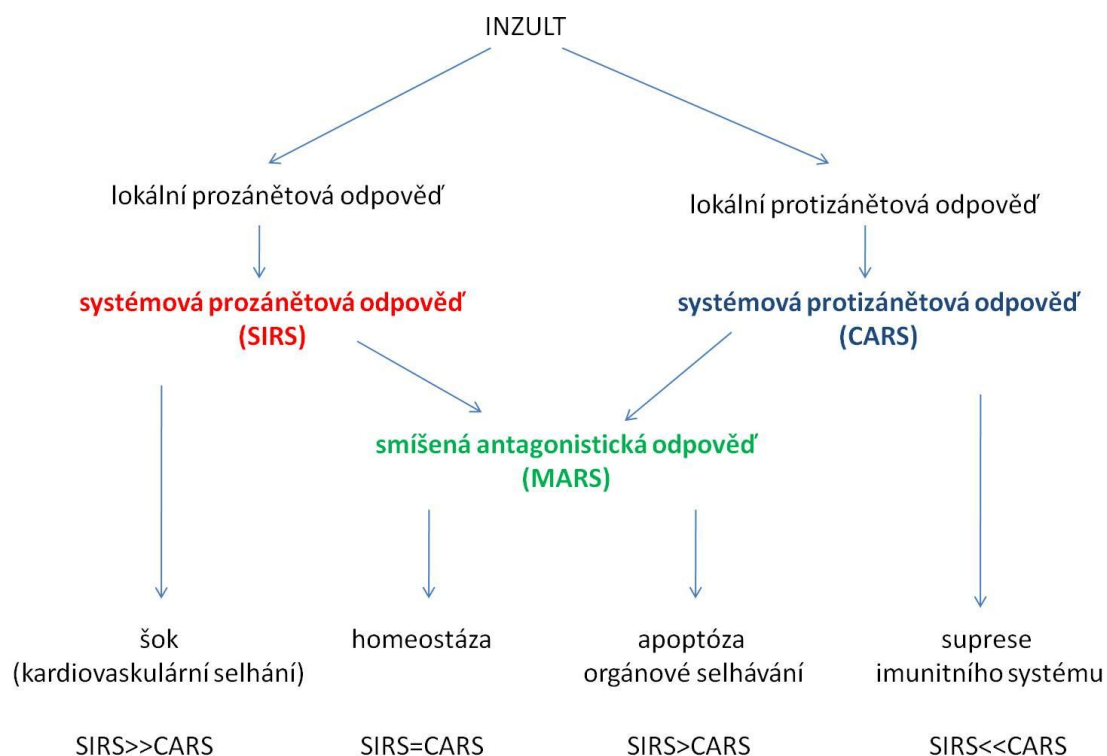
Imunitní odpověď na akutní bakteriální či mykotickou infekci zprostředkovávají zejména makrofágy s monocyty a neutrofilů, které tvoří mediátory a regulátory zánětu. Hlavním prozánětlivým mediátorem je tumor necrosis faktor α (TNF α), interleukin 1 (IL-1), metabolity kyseliny arachidonové, IL-6, IL-8, IL-2.

Původní zánětlivá odpověď organismu na mikrobiální invazi je prospěšná, neboť aktivuje obranu proti infekci. Při těžší a protrahované zátěži dochází k aktivaci sekundární zánětové reakce, která je nezbytná k překonání inzultu a následné reparaci, a má tudíž primárně obranný charakter. Tato reakce již může mít určité známky delokalizace (leukocytóza, oběhová reakce), nemá však převažující autoagresivní ráz. Je-li však zátěž nadlimitní anebo reaktivita organismu abnormálně zvýšená, dochází k další delokalizaci a deregulaci zánětu, který nabývá systémově destruktivního charakteru (SIRS) a vzniká sekundární syndrom odpovědi vzdálených orgánů (20).

Nové studie naznačují, že k výše uvedené masivní prozánětlivé odpovědi se později přidává kompenzatorní protizánětlivá reakce (CARS) (21, 22), která byla do nedávné doby poněkud přehlížená (20). CARS se významně účastní průběhu tzv. pozdní fáze onemocnění. Podílí se na ní jednak přímé negativní

vazby (autoinhibiční vliv sekrece prozánětlivých cytokinů), dále se paradoxně začne zvyšovat hladina „protizánětlivých“ cytokinů, jako je interleukin 10, IL-4, antagonisti IL-1, TGF beta, solubilní receptor pro TNF aj. (18) Současně je aktivita tzv. TH 1 lymfocytů (zdroj „prozánětlivých“ cytokinů typu IL- 1) v této fázi sepse nahrazena aktivitou tzv. TH 2 a TH 3 lymfocytů, které produkují protizánětlivé cytokiny. Ale ani tato pozdější reakce není dobře vybalancována, tj. kompenzována. Výsledek závisí na rovnováze mezi SIRS a CARS. Pokud se podílí na reakci SIRS i CARS, jedná se o tzv. MARS (Mixed Antagonist Response Syndrom) – syndrom smíšení zánětlivé odpovědi (21) (obr. č. 2).

Obrázek č. 2: SIRS, CARS, MARS



Pokud jako reakce organismu na původní inzult převládne SIRS (syndrom systémové zánětlivé odpovědi), rozvíjí se septický šok a kardiovaskulární selhání. Pokud se na odpovědi podílí CARS (syndrom systémové protizánětlivé odpovědi), i SIRS, jedná se o tzv. smíšenou antagonistickou odpověď MARS. Žádoucí je rovnováha mezi SIRS a MARS, která vede k nastolení homeostázy. Převládá-li SIRS, dochází k apoptóze a orgánovému selhávání. Při značné převaze CARS dojde k supresi imunitního systému.

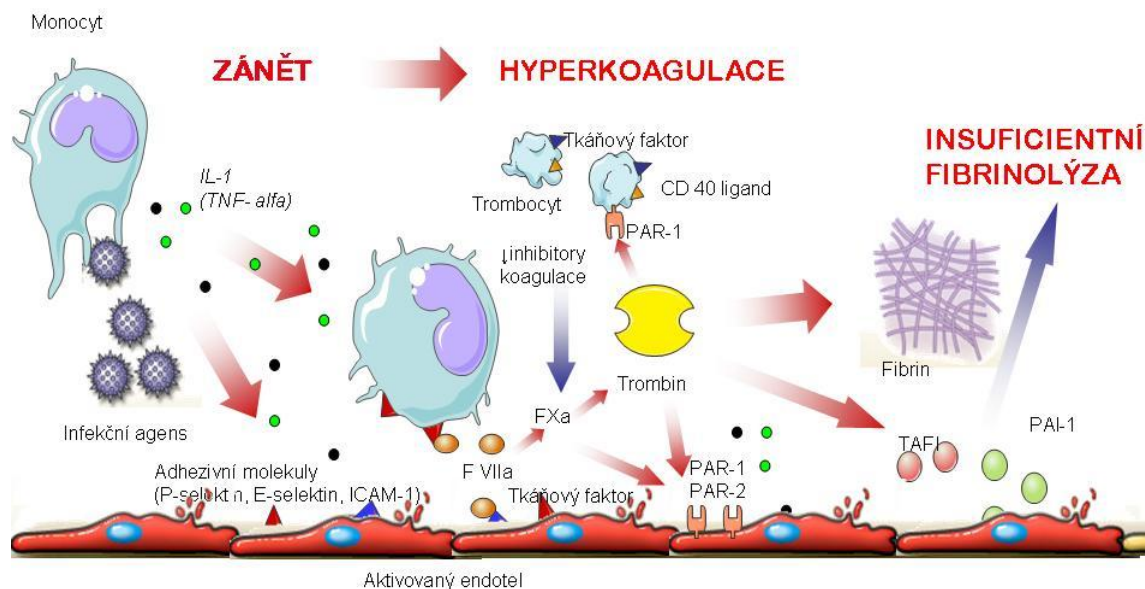
Upraveno podle Bonea (21) a Zavadila (20).

1.5. Patofyziologie hemostázy v průběhu seps

Na počátku seps nejprve dominuje hyperkoagulace, která vzniká jako následek zvýšené prozánětlivé aktivity. Je však možné, že k podobné kontraregulaci jako v imunitním systému dochází i v hemostáze. V terminálním stádiu seps může dojít i k jejímu selhání, které se manifestuje jako syndrom diseminované intravaskulární koagulace s projevy buď krvácení nebo trombotizace, respektive kombinace obou.

Zánět při sepsi navozuje protrombotický stav několika mechanismy; důležitou úlohu hrají 3 základní faktory: zvýšená tvorba trombinu, dysfunkce inhibice koagulace a také porušená fibrinolýza (23) (obr. č. 3).

Obrázek č. 3: Vzájemné interakce zánětlivé a koagulační odpovědi



Buňky imunitního systému po rozpoznání infekčního agens produkují řadu zánětlivých cytokinů, které dále aktivují endotel, leukocyty a destičky. Aktivovaný endotel na svém povrchu exprimuje řadu molekul (von Willebrandův faktor, P-selektin, tkáňový faktor). Tkáňový faktor iniciuje koagulaci a vede k masivní tvorbě faktoru Xa (F Xa) a trombinu. Trombin dále prostřednictvím PAR-1 (proteázami aktivovanými receptory) stimuluje endotel a destičky k další expresi adhezivních molekul a tvorbě zánětlivých cytokinů. Také F Xa působí podobně na endotel a stimuluje PAR-2 receptor. Snížená hladina inhibitorů koagulace umožňuje další progresi trombogeneze. Zvýšená hladina inhibitorů fibrinolýzy TAFI a inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1) (uvolněné aktivovaným endotelem) způsobí insuficienci fibrinolytického systému. Dochází k bludnému kruhu aktivace koagulace, trombofilii, vyčerpání inhibitorů a v konečném výsledku až k rozvoji DIC syndromu (syndrom diseminované intravaskulární koagulace) s krvácením nebo k multiorgánovému selhání při trombotizaci v mikrocirkulaci.

1.5.1. Zvýšená tvorba trombinu

Při sepsi dochází k aktivaci a poškození endotelu, a to přímo (např. endotoxinem) nebo zprostředkovaně (zánětlivými mediátory). Takto aktivované buňky endotelu, trombocyty a monocyty exprimují na svém povrchu celou řadu molekul, které dále podporují nejen zánětlivou, ale i koagulační odpověď (23-25). Na povrchu aktivovaného endotelu, monocytů a destiček dochází k odkrytí tkáňového faktoru (TF), jehož exprese je vyvolaná především po uvolnění prozánětlivých cytokinů typu interleukinu 1 (např. IL-1, TNF- α) z mononukleárů a leukocytů (26). TF je receptorem pro faktor VII (F VII), váže jej a následně tak iniciuje koagulaci (27). V játrech se pod vlivem IL-6 zvyšuje syntéza tzv. proteinů akutní fáze. Mezi tyto proteiny patří i některé koagulační faktory (např. fibrinogen, faktor VIII – F VIII) a inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1) (28). Jejich zvýšená syntéza tak dále přispívá k hyperkoagulačnímu stavu.

1.5.2. Dysfunkce inhibice koagulace

Za normálních okolností je tvorba trombinu regulována inhibitory koagulace – antitrombinem (AT), proteiny C a S (PC a PS) a inhibitorem kaskády tkáňového faktoru (tissue factor pathway inhibitor – TFPI). Během těžké sepse jsou všechny tyto regulační systémy oslabeny – jednak jejich urychlenou spotřebou, dále degradací elastázami z aktivovaných neutrofilů a jejich nedostatečnou syntézou. Snížená účinnost PS je také ovlivněna vazbou na protein C4b binding protein (C4bBP). Plazmatické hladiny C4bBP jsou při zánětlivé reakci zvýšeny. Vyvázání volného PS může přispívat k relativnímu deficitu PS a oslabení inhibičního efektu proteinu C (29). K nízké účinnosti PC dále přispívá i jeho nedostatečná aktivace trombomodulinem, jehož produkce endotelem je vlivem zánětlivých cytokinů snížena (30).

1.5.3. Porušená fibrinolýza

Fibrinolytický systém zajišťuje degradaci vzniklého fibrinu. Ve fázi iniciace zánětu je krátkodobě fibrinolytická aktivita zvýšena jako důsledek rychlého vyplavení aktivátorů plazminogenu z endotelu. Tento efekt je však pouze krátkodobý a je rychle potlačen vyplavením inhibitorů fibrinolýzy, zejména PAI-1. Trombin indukuje také zvýšení TAFI (thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor – inhibitor fibrinolýzy indukovaný trombinem) (31). Oslabená fibrinolytická aktivita pak přispívá k přetrvávání fibrinových náletů v cirkulaci, a tím i k rozvoji multiorgánového selhávání (23).

1.5.4. Vzájemný vztah zánětlivé a koagulační odpovědi

Vztah zánětlivé odpovědi a koagulace je oboustranný. Řada koagulačních faktorů může také zasahovat zpětně do zánětlivých procesů (32). Zejména koagulační faktory Xa, trombin a komplex TF/F VII ovlivňují zánětlivou reakci organismu. Tyto koagulační proteázy aktivují PAR receptory (proteázami aktivované receptory), na destičkách PAR-1 a PAR-4; na endotelu PAR-1 a PAR-2. Aktivace PAR-1 receptorů pak dále indukuje na endotelu transkripci faktorů regulujících expresi TF, adhezivních molekul, růstových faktorů, cytokinů (IL-6 a 8) a jiných molekul, které se dále účastní regulace jak koagulační, tak i zánětlivé odpovědi (33-35) .

Důležité regulační pojítka mezi koagulací a zánětlivou odpovědí představuje protein C. Aktivovaný protein C má přímé i nepřímé (prostřednictvím inhibice generace trombinu) protizánětlivé účinky na mononukleáry a granulocyty, snižuje produkci některých prozánětlivých cytokinů, např. IL-6 (32, 36).

Zánětlivou odpověď stimulují několika mechanismy také aktivované destičky (32). Jsou schopné uvolňovat cytokiny IL 1 a dále na svém povrchu exprimují ligand CD 40, který je ligandem receptoru pro tumor necrosis factor

alfa. Aktivované destičky tak vlastně přebírají funkci tumor necrosis factor alfa a mohou tak dále indukovat zánětlivou aktivaci endotelu.

1.6. Tromboembolické komplikace u pacientů se sepsí

Hluboká žilní trombóza (HŽT) a plicní embolie (PE) jsou častou komplikací u pacientů se sepsí. Byla publikovaná řada studií zaměřená na výskyt tromboembolických komplikací, v nichž byl zhrnut velký počet pacientů se sepsí nebo akutním infekčním onemocněním (37-40) . V těchto studiích je popisován výskyt objektivně potvrzené tromboembolické nemoci (TEN) mezi 9,6-33 % pacientů JIP (41).

Příčinou vysoké incidence TEN u těchto pacientů je především zánětem navozený trombofilní stav. Hyperkoagulační stav dále potencují některé další rizikové faktory (RF). U většiny pacientů se sepsí se sdružuje několik těchto RF (42, 43) .

Jedná se zejména o faktory:

- edém
- multiorgánového selhávání
- respirační selhání
- srdeční selhání
- šok

Další faktory jsou dané režimem a použitou léčbou na JIP:

- imobilizace
- zavedený centrální žilní katétr
- podávání vazopresorů
- umělá plicní ventilace

- operace

Některé předcházejí samotnému septickému onemocnění:

- předchozí HŽT
- vysoký věk
- malignita
- cévní mozková příhoda
- dědičný trombofilní stav
- obezita
- obstrukční bronchopulmonální nemoc
- ischemická choroba dolních končetin
- onemocnění jater a ledvin

1.6.1. Doporučení pro profylaxi tromboembolických komplikací u pacientů se sepsí

V roce 2008 vypracovala skupina expertů doporučení pro vedení podpůrné terapie u pacientů se sepsí – „Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock“ (44). Guidelines obsahují i doporučení týkající se profylaxe žilní trombózy. Vycházejí z výsledků multicentrických randomizovaných studií, do nichž byl zařazen dostatečný počet septických pacientů (36, 37, 43). U pacientů se závažnou sepsí má být profylaxe HŽT zajištěna nízkomolekulárními hepariny (LMWH) nebo nefrakcionovaným heparinem (UFH) subkutánně (s.c.). U pacientů kontraindikovaných k podávání heparinů (např. pro trombocytopenii, těžkou koagulopatii, aktivní krvácení, krvácení do mozku a jiné) je doporučováno zajištění alespoň mechanické profylaxe (kompresivní punčochy s graduovanou kompresí, intermitentní pneumatická komprese). U pacientů s vysokým rizikem

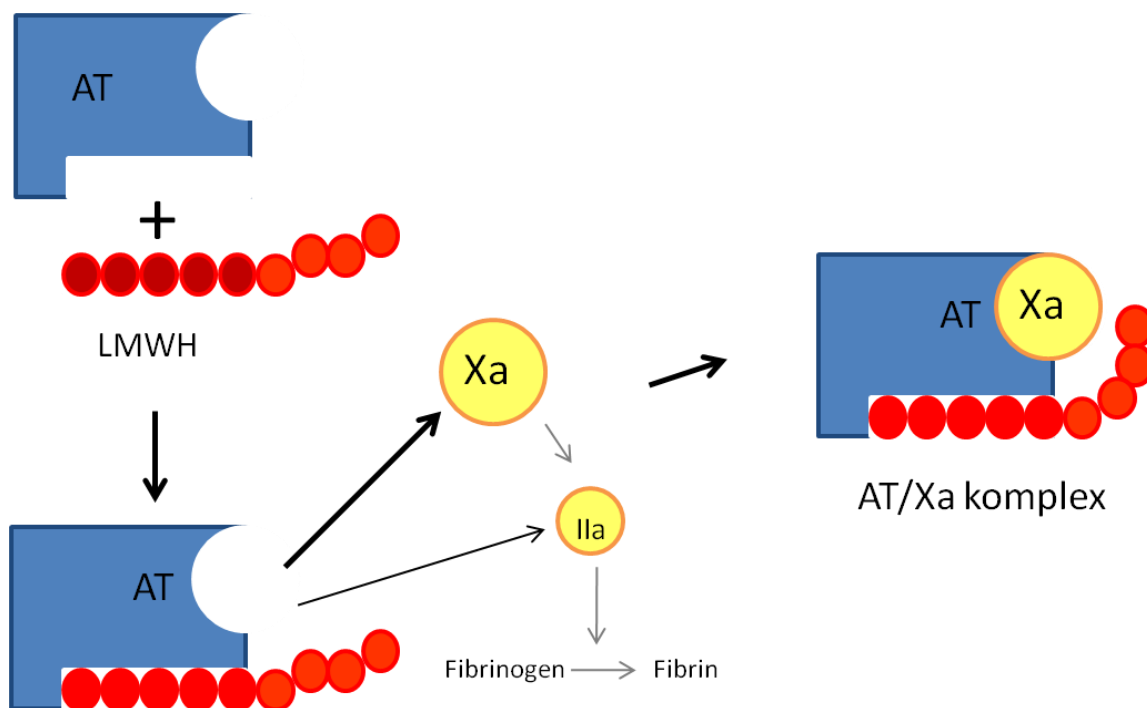
HŽT (např. s HŽT v anamnéze) je doporučována kombinace farmakologické a mechanické profylaxe TEN. Všechna tato doporučení jsou označena nejvyšším stupněm 1A (jasný poměr benefit/riziko, včetně ekonomického přínosu, doporučení na základě kladných výsledků 2 na sobě nezávislých, randomizovaných, velkých klinických studií s malým počtem chyb, kontrolovaných proti placebo).

Také guidelines 8. ACCP konference o antitrombotické a trombolytické terapii z roku 2008 (45) uvádějí, že u většiny pacientů JIP je vhodná profylaxe TEN. U pacientů se středním rizikem vzniku TEN je doporučováno podávání LMWH nebo UFH, u pacientů s vysokým rizikem je upřednostňováno podávání LMWH. Jedná se opět o nejsilnější doporučení 1A.

1.6.2. Nízkomolekulární hepariny

Celá skupina heparinů se řadí mezi tzv. nepřímé trombinové inhibitory, což znamená, že jejich účinek je zprostředkován vazbou na antitrombin, případně heparinový kofaktor II. Nefrakcionovaný heparin i nízkomolekulární hepariny (LMWH) v kombinaci s antitrombinem neutralizují aktivované koagulační faktory – XIIa, XIa a IXa, dále především faktor IIa (trombin) a Xa (obr. 4). Antitrombotické působení heparinů nespočívá pouze v jejich antikoagulační aktivitě. Heparin ovlivňuje endoteliální funkce, aktivuje fibrinolýzu a působí na funkci destiček (25).

Obrázek č. 4: Mechanismus účinku LMWH



LMWH velmi účinně potencuje v přítomnosti AT inhibici faktoru Xa. Vazba pentasacharidové sekvence LMWH na antitrombin mění konformaci molekuly a usnadní vazbu F Xa k této molekule. V menší míře potencují LMWH také inhibici dalších koagulačních faktorů, zejména F IIa.

Nízkomolekulární hepariny jsou vyrobené chemickou nebo enzymatickou depolymerizací heparinu. K myšlence fragmentace standardního heparinu vedl poznatek, že důležitá inhibice X. koagulačního faktoru je způsobena pouze částí jeho molekuly o nízké molekulové hmotnosti. Fragmenty heparinu veliké 16–20 monosacharidových jednotek, které mají molekulovou hmotnost nižší než 5 000 daltonů, obsahují specifické vazebné pentasacharidové sekvence k AT. Afinita frakcionovaného nízkomolekulárního heparinu

(LMWH) k antitrombinu je 4× vyšší než heparinu nefrakcionovaného. Vysokomolekulární či nefrakcionovaný heparin má nízkou afinitu k antitrombinu, a tedy vyvolává i nižší antitrombotickou odpověď (25, 46).

Cílem fragmentace heparinu bylo kromě zajištění vyšší účinnosti léku také eliminace nežádoucích biologických a farmakologických vlastností nefrakcionovaného heparinu. Mezi ně patří např. vazba na trombocyty s rizikem indukce protilátek proti tomuto komplexu trombocyt-heparin a vznik heparinem indukované trombocytopenie (HIT). Riziko jejího vzniku je u LMWH sníženo. Z farmakokinetických vlastností je to především biologická dostupnost heparinů - je rovněž vázána na molekulární hmotnost heparinových řetězců. Délka řetězce ovlivňuje schopnost vázat se na endotelie a plazmatické bílkoviny. Nefrakcionovaný heparin se aktivně váže na endoteliální buňky a na makrofágy, a tím rychle mizí z cirkulace. K udržení účinné plazmatické hladiny je v klinické praxi nutná trvalá infúze nebo opakované podávání heparinu. Standardní heparin se také váže na různé plazmatické bílkoviny, např. fibronektin, vitronektin, destičkový faktor 4 a von Willebrandův faktor. Tím je dále omezováno množství heparinu, které je schopné se vázat s AT, čímž se dále snižuje antikoagulační účinek nefrakcionovaného heparinu. Frakcionací heparinu se jeho schopnost vazby na bílkoviny krevní plazmy, endotelie a další buněčné elementy snižuje, a díky tomu mají nízkomolekulární hepariny delší účinek, lepší subkutánní resorpci a dobrou předvídatelnost účinku (25, 46).

1.6.3. Úskalí farmakologické profylaxe TEN u pacientů se sepsí

Správné zajištění profylaxe žilního tromboembolismu u pacientů se sepsí je velmi často obtížné. Mnohdy se současně vyskytuje vysoké riziko vzniku TEN a závažného krvácení. Nejčastější příčinou vysokého rizika krvácení je trombocytopenie, trauma, koagulopatie vzniklá jako následek jaterního selhání, uremie a koagulopatie způsobená deficitem koagulačních faktorů při jejich konzumpci vedoucí až k diseminované intravaskulární koagulaci (DIC) (47). Oba zmíněné stavy – tromboembolická nemoc i krvácení, jsou potenciálně

smrtelné komplikace a představují vlastně z hlediska etiopatogeneze dvě strany jedné mince. Vysoké riziko krvácení (mimo DIC syndromu) pak znamená relativní kontraindikaci k podávání farmakologické profylaxe TEN antikoagulancii. V tomto případě je doporučováno zajištění profylaxe TEN mechanickými metodami (45), které zahrnují punčochy s graduovanou kompresí, intermitentní pneumatickou kompresi a přístroj na podporu žilní pumpy. I když je v současnosti užívání elastické komprese samozřejmostí, jsou mechanické metody profylaxe TEN obecně považovány za méně účinné (45).

I farmakologická profylaxe TEN však u pacientů se sepsí často selhává, což dokumentuje vysoká incidence TEN (až 15,5 %) při použití profylaxe (37-40, 48, 49). Selhání profylaxe může být způsobeno jednak kontinuální protrombotickou stimulací zánětem, dále nedostatečným efektem antikoagulancií (50). Několik klinických studií již prokázalo, že po s.c. aplikaci LMWH u kriticky nemocných pacientů dochází k nižší inhibici aktivovaného faktoru X (F Xa), než které je dosahováno u zdravých dobrovolníků (51-56).

1.6.4. Možné příčiny nedostatečného efektu LMWH u pacientů se sepsí

Sepse a septický šok jsou doprovázeny celou řadou změn v organismu, které mohou ovlivnit účinnost subkutánně podávaných nízkomolekulárních heparinů u kriticky nemocných pacientů.

Absorpci léčiva po subkutánní aplikaci může snižovat například podávání vazopresorů nebo podkožní edém s poruchou perfúze periferních tkání, kam je aplikován LMWH (50, 51).

Biologickou dostupnost nefrakcionovaného heparinu může částečně ovlivňovat též jeho vazba na plazmatické proteiny. To již bylo prokázáno u proteinů akutní fáze orosomukoidu a alfa-1-antitrypsinu (57). Lze proto předpokládat, že k podobnému jevu může docházet částečně i u LMWH, který je vyráběn frakcencí z UFH (46). Ke snížení biologické dostupnosti může docházet právě u pacientů se sepsí, kteří mají při zánětlivé reakci hladiny proteinů akutní fáze zvýšeny.

Efekt LMWH je zprostředkován přirozeným inhibítozem koagulace antitrombinem (46). Jak již bylo uvedeno, u pacientů se sepsí se snižuje aktivita tohoto inhibitoru. U pacientů s nízkou aktivitou AT může být díky tomu inhibice F Xa nízkomolekulárním heparinem nedostatečná.

Protože LMWH jsou převážně eliminovány ledvinami, může také renální selhání, které sepsi často doprovází, vést ke kumulaci farmaka v organismu (58, 59) a ke zvýšenému antitrombotickému efektu spojeného s rizikem krvácení.

2. Cíle studie

2.1. Dynamika změn hemostázy ve vztahu k zánětlivé reakci organismu v průběhu závažné sepse

Z výše uvedených faktů vyplývá, že změny hemostázy při sepsi představují velmi komplexní, dynamicky probíhající děj. Dosud prováděné výzkumy zaznamenaly průběh těchto změn pouze v počátečních stádiích sepse, proto nás zajímalo, jak se bude hemostáza vyvíjet v dalším průběhu sepse. V této studii tedy byla stanovena doba sledování nejméně 15 dní.

Jedním z cílů studie bylo sledovat, jak se v průběhu tzv. „časné“ i „pozdní“ fáze závažné sepse mění

- vybrané koagulační markery - aktivovaný parciální tromboplastinový čas (aPTT), protrombinový čas (PT), koncentrace fibrinogenu, aktivita antitrombinu a proteinu C, koncentrace D-dimeru a protrombinové fragmenty F 1+2
- parametry zánětu:
 - „pozitivní“ proteiny akutní fáze (C-reaktivní protein (CRP), orosomukoid, alfa-1-antitrypsin)
 - „negativní“ proteiny akutní fáze (transferin a prealbumin) (60)
- koncentrace cytokinu interleukinu 6 (IL-6).

2.2. Inhibice faktoru Xa při doporučené profylaxi subkutánně podávaným LMWH

Jak již bylo uvedeno, u pacientů se závažnou sepsí je na základě současných doporučení rutinně prováděna antitrombotická profylaxe. Ta však často selhává. Proto jsme naši pozornost zaměřili i na měření její účinnosti pomocí vyšetření míry inhibice faktoru Xa. Zajímalo nás, zda se u pacientů se závažnou sepsí při profylaktické dávce LMWH dosáhne inhibice F Xa v arbitrárně stanoveném rozmezí 0,2 – 0,4 IU/ml (61, 62).

Na rozdíl od předchozích studií bylo naším cílem zaznamenat i dynamiku změn inhibice F Xa v průběhu celého sledovaného období.

2.3. Vliv vybraných parametrů na efekt subkutánně podávaného nízkomolekulárního heparinu

Ze získaných nálezů jsme se snažili identifikovat faktory, kterými sepsí indukované patofyziologické mechanismy mohou ovlivnit účinnost subkutánně podávaného enoxaparinu. Sledovali jsme vzájemnou souvislost mezi účinností prováděné antitrombotické profylaxe (měřené pomocí míry inhibice F Xa) a vyšetřovanými parametry hemostázy a zánětlivé reakce – především jsme se zaměřili na možný vliv vazby LMWH na proteiny akutní fáze (orosomukoid, alfa-1-antitrypsin), nedostatečnou aktivitu antitrombinu, který efekt LMWH zprostředkuje. Dále jsme sledovali, zda je inhibice F Xa ovlivněna hodnotami BMI (body mass index), hodnotami arteriálního tlaku krve (TK) (systolický, diastolický a střední TK) a funkcí ledvin měřené pomocí vypočtené clearance kreatininu.

2.4. Vzájemný vztah závažnosti klinického stavu pacienta a vybraných parametrů hemostázy a zánětlivé reakce

Klinický stav pacienta je v praxi obvykle sledován pomocí různých skórovacích systémů, nejčastěji APACHE II (64), dále SAPS II (Simplified Acute Physiology Score) (65) skórovací systém. K hodnocení míry selhávání orgánových systémů je obvykle využíváno SOFA skóre (13). Tyto skórovací systémy hodnotí řadu fyziologických parametrů při akutním stavu pacienta (viz tab. č. 2, 3, 4), z parametrů hemostázy a zánětlivé reakce však pouze počet leukocytů u APACHE II a SAPS II skóre; počet trombocytů v případě SOFA skóre. Z tohoto důvodu jsme se zajímali, do jaké míry koreluje klinický stav pacienta hodnocený těmito skórovacími systémy s námi měřenými parametry hemostázy, zánětlivé reakce (proteiny akutní fáze a koncentrace interleukinů) a známek aktivace endotelu.

Tabulka č. 2: APACHE II – hodnocené parametry

<i>Parametr</i>
Teplota
Střední krevní tlak
Srdeční frekvence
Dechová frekvence
Oxygenace
Arteriální pH
Natrium v séru
Kalium v séru
Kreatinin v séru
Hematokrit
Leukocyty
Glasgow Coma Score
Věk
Těžká chronická orgánová nedostatečnost nebo snížená obranyschopnost

APACHE II –Acute Physiology And Chronic Health Evaluation score (64)

Tabulka č. 3: SAPS II – hodnocené parametry

Parametr
Typ příjmu (akutní/plánovaný)
Chronická onemocnění
Glasgow Coma Scale
Věk
Systolický krevní tlak
Srdeční frekvence
Tělesná teplota
PaO ₂ /FIO ₂ (mm Hg) - je-li pacient ventilován či na CPAP
Diuréza
Urea v séru
Leukocyty
Draslík (K) v séru
Natrium (Na) v séru
HCO ³⁻
Bilirubin v séru

SAPS II – New Simplified Acute Physiology Score (65), PaO₂ – parciální tlak kyslíku v arteriální krvi, FiO₂ – frakční koncentrace kyslíku ve vdechovaném vzduchu, PaO₂/FiO₂ – hypoxemický index

Tabulka č. 4: SOFA –hodnocené orgánové systémy a sledované parametry

Orgánový systém	sledovaný parametr
Dýchání	poměr PaO ₂ /FIO ₂
Koagulační	počet trombocytů
Játra	bilirubin
Cirkulace	krevní tlak, nutnost podávání adrenalinu, noradrenalinu, dobutaminu, dopaminu
CNS	Glasgow Coma Score
Ledviny	kreatinin, výdej moči

SOFA –Sepsis-related Organ Failure Assessment (13)

3. Použité metody

3.1. Výběr pacientů

Do studie byli zařazeni všichni pacienti přijatí na Jednotku intenzivní péče I. chirurgické kliniky Všeobecné fakultní nemocnice v Praze splňující níže uvedená vstupní kritéria. Do následného statistického zhodnocení však byli zahrnuti pouze pacienti, které bylo možno sledovat po celé stanovené období patnácti dní.

Vstupní kritéria:

- splnění kritérií diagnózy závažné sepse dle SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference z roku 2001 (11)
- indikace k profylaxi tromboembolické nemoci (63)
- věk >18 let.

Vylučující kritéria:

- hypersenzitivita na enoxaparin
- krvácivé stavy či zvýšené riziko krvácení v souvislosti s poruchami hemostázy
- trombocytopenie po LMWH v anamnéze
- aktivní peptický vřed nebo jiné organické poškození s rizikem krvácení
- akutní infekční endokarditida

- hemoragická cévní mozková příhoda v anamnéze
- podávání antikoagulační nebo protidestičkové léčby v době přijetí do studie
- kontinuální hemofiltrace

3.2. Léčba a profylaxe TEN

Pacienti byli léčeni podle Surviving Sepsis Campaign guidelines z roku 2004 (63) a k profylaxi HŽT byl u všech pacientů použit enoxaparin (Clexane inj. sol. 0,4 ml ®, Aventis, France) v jedné s.c. dávce 40 mg/24 hod. Aplikace byla prováděna do kožní řasy břišní stěny v době přijetí na JIP a dále vždy mezi 6.–7. hodinou ranní.

3.3. Klinické a laboratorní sledování

Klinické sledování a odběry krve k vyšetření proběhly 1., 2., 3., 6., 9., 12. a 15. den hospitalizace na JIP, vždy 4 hodiny (\pm 15 minut) po aplikaci enoxaparinu. Aby bylo zabráněno kontaminaci vzorků krve heparinem, nebyla krev získávána ze žilní kanyly s heparinovou zátkou, ale vždy novou venepunkcí. Klinický stav byl hodnocen skórovacím systémem APACHE II (64) a SAPS II (65), závažnost průběhu orgánového selhání pomocí skórovacího systému SOFA (13).

U všech pacientů byla sledována a zaznamenána přítomnost rizikových faktorů tromboembolické nemoci (vrozená trombofilie – mutace faktoru V Leiden nebo mutace faktoru II protrombinu; tromboembolická nemoc v anamnéze, věk nad 40 let, obezita, varixy, imobilizace, nespecifický střevní zánět, užívání hormonální kontracepce/hormonální substituční léčby estrogeny, srdeční selhání, akutní infarkt myokardu, prodělaná cévní mozková příhoda, polycytémie, nádorové onemocnění, chronická obstrukční pulmonální nemoc,

akutní respirační selhání, ztráta krve nad 2 litry, rozsáhlá operace nad 2 h, trauma, polytrauma, popáleniny v době přijetí na jednotku intenzivní péče).

3.4. Laboratorní metody

Odběr vzorků byl prováděn do vakuových zkumavek Vacutainer™ (Becton Dickinson, Rutherford, USA) obsahující 0,129 M citrátu sodného pro koagulační testy a ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) vyšetření F1+2 fragmentů. Zkumavky Vacutainer™ (Becton Dickinson) s obsahem K₂EDTA byly použity na vyšetření hemogramu. Pro vyšetření koncentrace proteinů akutní fáze a ostatní ELISA testy byly použity zkumavky Vacutainer® serum separator tubes (SST® II), obsahující thixotropic polymer gel, který vytvoří bariéru mezi sérem a koagulem odděleným odstředěním. Vzorky plazmy a séra pro vyšetření ELISA testů byly skladovány v -80 °C maximálně 2 měsíce před provedením měření.

Po dodávce vzorků potrubní poštou do laboratoře byl vyšetřen hemogram na analyzátoru Abbott Cell-Dyn® 3700 analyzer (Abbott Laboratories, Santa Clara, USA). Normální hodnoty laboratoře, průměr (r) ± směrodatná odchylka (SD), pro leukocyty (WBC) jsou $6,2 \pm 1,4 \times 10^9$ /l; $4,5 \pm 0,4 \times 10^{12}$ /l pro erytrocyty (RBC); 141 ± 10 g/l pro hemoglobin (HGB); $0,411 \pm 0,030$ pro hematokrit (HCT) a $239 \pm 45 \times 10^9$ /l pro trombocyty (PLT), s průměrnými hodnotami pro opakovatelnost (IAA) a reprodukovatelnost (IEA): 3,5 %, 5,0 % (WBC); 1,7 %, 1,9 % (RBC); 1,3 %, 1,7 % (HGB); 2,8 %, 1,3 % (HCT) a 2,8 %, 6,7 % (PLT).

Dále byly ihned vyšetřeny koagulační parametry. Aktivovaný parciální tromboplastinový čas (aPTT) a protrombinový čas (INR), koncentrace fibrinogenu (Fbg), D-dimerů, aktivita antitrombinu (AT) a proteinu C (PC) byly měřeny v citrátové plazmě analyzátozem BCS (Dade Behring, Marburg, SRN) pomocí komerčně vyráběných reagensů a imunodeficitní plazmy (Pathromtin SL®, Dade Behring; Fibrinogen Reagent™, Technoclone; Berichrom

Antithrombin III, Dade Behring; Berichrom[®] Protein C, MRX D-dimer, MediRox). Normální hodnoty laboratoře (průměr ± SD) jsou pro aPTT $31,5 \pm 3,7$ s, pro Fbg $3,13 \pm 0,56$ g/l, pro AT $100,5 \pm 11,9$ %, PC $104,8 \pm 19,1$ % a 187 ± 91 µg/l pro D-dimer, INR 0,90-1,20 ratio (medián 1), s průměrnými hodnotami pro opakovatelnost (IAA) a reprodukovatelnost (IEA): 5.5 %, 8.6 % (aPTT); 2.9 %, 1.6 % (Fbg); 4.4 %, 6.2 % (AT) and 3.0 %, 3.1 % (D-dimer), INR medián 1,00.

Hladiny IL-6 byly vyšetřeny z krevního séra metodou ELISA pomocí Quantikine[®] Human IL-6 High Sensitivity kitu, norma laboratoře (průměr ± SD) je $98,5 \pm 75,4$ pg/ml, hodnota opakovatelnosti (IAA) je 3,6 % a reprodukovatelnosti IEA) 7,8 %. Koncentrace lidských protrombinových fragmentů 1+2 (F 1+2) byly z citrátové plazmy vyšetřeny pomocí Enzygnost F 1+2 (monoclonal) ELISA kit (Dade Behring, Marburg, SRN). Norma laboratoře (průměr ± SD) je $0,2 \pm 0,1$ pmol/l s hodnotou opakovatelnosti 4,4 % a reprodukovatelnosti 3 %. Absorbance při ELISA testu byla měřena na analyzátoru MRX Microplate Reader[™] (Dynatech Laboratories, Chantilly, USA). Pozitivní i negativní proteiny akutní fáze byly stanoveny nefelometrickou metodou analyzátozem BN II (Dade Behring. K měření pozitivních proteinů akutní fáze byly použity reagenty: C-reaktivní protein (CRP) CardioPhase hsCRP Reagent[™], orosomukoid (ORM) a alfa-1-antitrypsin (A1AT) N Antisera[™] to Human α1- acid Glycoprotein, Human alfa-1-antitrypsin. K měření negativních proteinů akutní fáze prealbuminu a transferinu byly použity reagenty N Antisera[™] to Human Prealbumin a Human Transferin. Normální hodnoty laboratoře jsou (průměr ± SD) $0,20 \pm 0,18$ mg/dl (CRP), $0,71 \pm 0,17$ g/l (ORM), $1,32 \pm 0,20$ g/l (A1AT), $2,49 \pm 0,38$ g/l (TRF) and $0,27 \pm 0,05$ g/l (PREA) s hodnotou opakovatelnosti (IAA) a reprodukovatelnosti (IEA): 3,1 %, 2,5 % (CRP), 3,1 %, 1,9 % (ORM) 2,0 %, 3,2 % (A1AT), 2,7 %, 2,3 % (TRF) a 2,0 %, 3,2 % (PREA).

Pro stanovení cytoadhezivních molekul byly použity kity Human sP-Selectin, Human sE-Selectin a Human sICAM-1(intercellular adhesive

molecule 1) (vše R&D System, USA), normální hodnoty laboratoře jsou pro sE-selektin 16,3-59,6 ng/ml s mediánem 32,6 ng/ml; pro sICAM průměr \pm SD: $213 \pm 41,3$ ng/ml a pro sP-selektin průměr \pm SD: $134 \pm 39,5$ ng/ml. Hodnoty opakovatelnosti/reprodukovatelnosti jsou 3,6 % / 39 % pro sE-selektin; 6,8 % / 3,4 % pro sICAM a 4,9 % / 5,3 % pro sE-selektin.

Inhibice faktoru Xa byla změřena s použitím chromogenního testu Coamatic Heparin (Chromogenix Instrumentation Laboratory S.p.A., Milano, Italie). Coamatic Heparin je reagencie, která nevyžaduje přidavek exogenního antitrombinu, a je tedy závislá na hodnotách antitrombinu endogenního, který je obsažen v pacientově plazmě.

Koncentrace kreatininu byla vyšetřena Jaffeho kolorimetrickou metodou (66) a clearance kreatininu byla vypočítána podle Cockcrofta and Gaulta (67).

Normální hodnoty laboratoře uvedených testů jsou uvedeny v tabulce (tab. č. 5).

Tabulka č. 5: Normální laboratorní hodnoty

<i>Parametr</i>	<i>Výrobce reagencie</i>	<i>Jednotky</i>	<i>r ± SD /medián</i>
INR	Behring	Ratio	1,00 (medián)
aPTT	Behring	Sec	31,5 ± 3,7
Fbg	Behring	g/l	3,13 ± 0,56
PC	Behring	%	104,75 ± 19,1
AT	Behring	%	100,5 ± 11,9
D-dimer	Behring	µg/l	187 ± 91
AlAT	Behring	g/l	1,32 ± 0,20
Trf	Behring	g/l	2,49 ± 0,38
Prea	Behring	g/l	0,27 ± 0,05
Orm	Behring	g/l	0,71 ± 0,17
CRP	Behring	mg/dl	0,20 ± 0,18
inhibice F Xa	Chromogenix	IU/ml	0,013 ± 0,1
F 1+2	Behring	pmol/l	0,2 ± 0,1
IL-6	RnD Systems	pg/ml	98,5 ± 75,4
sE-sel	RnD Systems	ng/ml	32,6 (medián)
sICAM	RnD Systems	ng/ml	213,5 ± 41,3
sP-sel	RnD Systems	ng/ml	134,5 ± 39,5

Normální laboratorní hodnoty vyšetřených parametrů v Centrálních hematologických laboratořích VFN a 1. LF UK.

aPTT – aktivovaný parciální tromboplastinový čas, INR – protrombinový čas vyjádřený jako INR – international normalized ratio; AT– antitrombin;

PC – protein C; FBG – fibrinogen; F 1+2 – protrombinové fragmenty 1.2;

IL-6 – interleukin 6, CRP – C-reaktivní protein; Orm – orosomukoid;

AlAT – alfa-1-antitrypsin; Trf – transferin; Prea – prealbumin;

sE-sel – sérový E-selektin, sP-sel – sérový P-selektin.

3.5. Statistické metody

Ke statistické analýze dat a pro grafické znázornění výsledků studie byl použit program StatSoft, Inc. STATISTICA (2011) (data analysis software system), version 10 (www.statsoft.com). Byly stanoveny údaje deskriptivní statistiky a k porovnání rozdílů v čase pro normální rozložení byl použit „One way repeated measures analysis of variance“ (ANOVA test) s Holm-Sidak post-hoc test a pro data, jejichž rozložení normální není, Friedman „Repeated measures analysis of variance on ranks“ s Tukey post-hoc test.

Ke zjištění vztahů mezi inhibicí faktoru Xa a vybranými proměnnými byl proveden výpočet korelačního koeficientu za použití testu vícečetné regrese (multiple regression test), kde je pacient vybrán jako jeden z faktorů. Tato metoda je doporučována (68, 69) k analýze dat, kde je prováděno více měření u jednoho subjektu – opakovaná měření. Při využití této metody získáváme takzvanou korelaci uvnitř subjektu „within subject correlation“, která vyjadřuje, zdali změny jedné proměnné jsou doprovázeny změnou jiného parametru u stejného subjektu.

Hladina statistické významnosti (p) byla pro každý test stanovena na $\leq 0,05$.

Protokol studie byl schválen etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice v rámci schválení výzkumného záměru VZMZ0VFN2005. Od každého pacienta byl získán informovaný souhlas se vstupem do studie, pokud to stav pacienta dovolil, v opačném případě byl informovaný souhlas získán od rodinných příslušníků pacienta.

4. Výsledky

4.1. Soubor pacientů

Ve studii bylo v průběhu r. 2007–2009 sledováno celkem 35 pacientů jednotky intenzivní péče chirurgické kliniky splňující kritéria závažné sepse. Pouze u 16 z nich (8 mužů, 8 žen; věk 35–83 let) bylo možné sledovat dynamiku změn hemostázy, zánětlivé reakce a vlivu antitrombotické profylaxe heparinem po celou stanovenou dobu 15 dní. Demografická data pacientů (věk, hmotnost, body mass index) a jejich přidružená závažná onemocnění (nádorové onemocnění, ischemická choroba srdeční, chronická obstrukční pulmonální nemoc, diabetes mellitus, hypertenze) jsou shrnuta v tabulace (tab. č. 6).

Tabulka č. 6: Charakteristika pacientů, demografická data a přidružená onemocnění

	průměr	SD
BMI	28,53	4,64
hmotnost (kg)	83,25	13,84
věk (roky)	63,38	14,27
APACHE II skóre	19	4,87
SOFA skóre	10,25	2,49
SAPS II skóre	39,69	2,49
Onemocnění	n	
ICHS	6	
CHOPN	3	
DM (II. typu)	7	
hypertenze	8	
malignita	4	

BMI – body mass index; ICHS – ischemická choroba srdeční; CHOPN – chronická obstrukční pulmonální nemoc; DM – diabetes mellitus; n – počet pacientů; SD – směrodatná odchylka.

Dutina břišní byla identifikována jako zdroj infekce u všech zařazených pacientů, 10 pacientů mělo difúzní peritonitis. Sedm pacientů mělo prokázaný další extra-abdominální fokus infekce (6 pacientů bronchopneumonii, 1 mediastinitis, 5 močovou infekci). Všichni pacienti podstoupili chirurgický zákrok, který ošetřil primární infekční fokus v dutině břišní.

Žádný pacient nesplňoval kritéria zjevné diseminované intravaskulární koagulace podle ISTH (International Society on Thrombosis and Haemostasis)

DIC skóre (70) v době zařazení do studie. Žádný pacient neměl vážnou trombocytopenii (počet destiček menší než $50 \times 10^9/l$), jeden pacient měl středně závažnou trombocytopenii (počet destiček $50-150 \times 10^9/l$). U žádného pacienta nebyla zaznamenána heparinem indukovaná trombocytopenie ani alergická reakce na podávaný enoxaparin. U dvou pacientů byl průběh sepse komplikován krvácením, v obou případech se jednalo o chirurgický zdroj krvácení (krvácení z operační rány). Krvácení bylo zjištěno 1. den, resp. v 6. den. Toto krvácení nevyžadovalo ukončení terapie enoxaparinem. U jednoho pacienta byla 6. den sledování prokázána CT vyšetřením ileofemorální hluboká žilní trombóza vlevo, byla zahájena intravenózní terapie nefrakcionovaným heparinem a výsledky vyšetření koagulace tohoto pacienta nebyly již 9., 12. a 15. den zahrnuty do statistického hodnocení.

Hodnota vstupního skóre APACHE II byla u všech pacientů menší než 25. Dle kritérií studie PROWESS (7) mohou být tedy zařazeni mezi pacienty s méně závažným klinickým průběhem sepse. Osm pacientů mělo zajištěnou katecholaminovou podporu oběhu minimálně 1 den. Všichni zařazení pacienti byli uměle ventilováni, průměrná délka ventilace byla 13,8 dní. Průměrná vstupní hodnota kreatininu byla $136,2 \pm SD 79,9 \mu\text{mol/l}$.

Výsledky hodnocení přítomnosti rizikových faktorů jsou uvedeny v tabulce č. 7. Všichni sledovaní pacienti měli minimálně 4 ze sledovaných rizikových faktorů, průměrný počet rizikových faktorů na jednoho pacienta byl 6.

Tabulka č. 7: Rizikové faktory tromboembolické nemoci

<i>rizikový faktor</i>	<i>počet pacientů</i>
těžká infekce	16
imobilizace	16
věk nad 40 let	15
Akutní respirační selhání	15
rozsáhlé operace nad 2 h	7
varixy	4
nádorové onemocnění	4
vrozená trombofilie	3
obezita	3
CHOPN	2
ztráta krve nad 2l	1
TEN v OA	1
trauma	0
popáleniny	0
polycytemie	0
nespecifický střevní zánět	0
hormonální kontracepce/HRT	0
CMP	0
akutní infarkt myokardu	0
dehydratace	0

CHOPN – chronická obstrukční pulmonální nemoc, TEN – tromboembolická nemoc, CMP – cévní mozková příhoda, OA – osobní anamnéza, HRT–hormonální substituční léčba

4.2. Dynamika změn hemostázy ve vztahu k zánětlivé reakci organismu v průběhu závažné sepse

4.2.1. Pozitivní proteiny akutní fáze

4.2.1.1.CRP

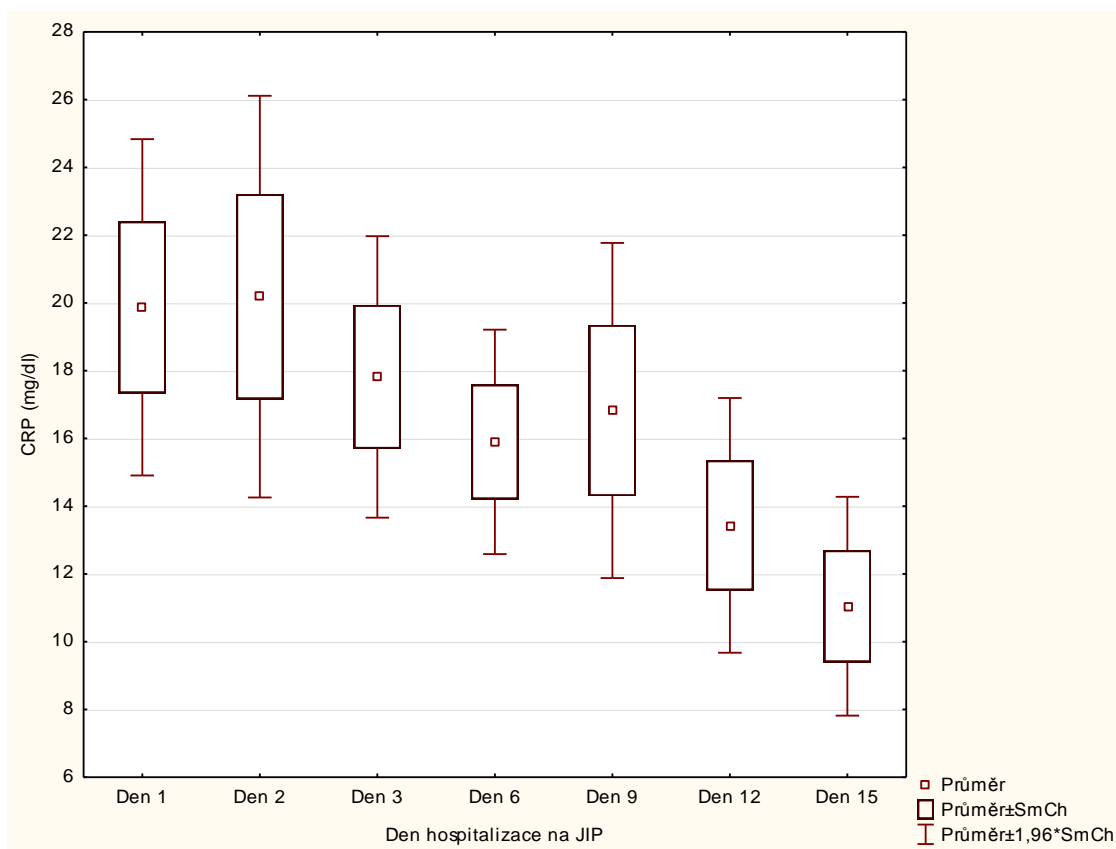
Koncentrace CRP jsou nejvyšší prvé 2 dny, následuje jejich postupný pokles. Devátý den jsou již hodnoty statisticky významně nižší ve srovnání s prvním dnem hospitalizace. I přes tento pokles jsou však po celou dobu sledování hodnoty vyšší, než jsou normální výsledky laboratoře ($p > 0,05$). Výsledky statistického zhodnocení jsou uvedeny v tabulce č. 8, grafické znázornění na obr. č. 5.

Tabulka č. 8: Změny koncentrace proteinů akutní fáze u pacientů se závažnou sepsí v průběhu 15 dní

		1. den	2. den	3. den	6. den	9. den	12. den	15. den	Norm. lab. Hodnoty
CRP (mg/dl)	průměr	19,87 a	20,19 a	17,82 a	15,90 a	16,83 a	13,44 a,b	11,50 a,b	0,20
	SD	10,13	12,10	8,84	6,76	10,10	7,67	6,59	0,18
	medián	18,50	17,55	17,40	16,20	13,60	11,00	11,35	0,20
A1A (g/l)	průměr	2,73 a	2,79 a	3,90 a	2,78 a	2,70 a	2,54 a	2,55 a	1,32
	SD	0,54	0,68	0,68	0,67	0,82	0,53	0,64	0,20
	medián	2,61	2,65	2,65	2,75	2,64	2,59	2,52	1,30
TRF (g/l)	průměr	1,23 a	1,20 a	1,20 a	1,22 a	1,21 a	1,29 a	1,37	2,49
	SD	0,22	0,29	0,26	0,41	0,35	0,39	0,42	0,38
	medián	1,24	1,17	1,18	1,70	1,21	1,25	1,27	2,48
Oroso (g/l)	průměr	1,87 a	1,89 a	1,97 a	1,96 a	2,10 a	2,40 a	1,95 a	0,71
	SD	0,41	0,49	0,40	0,39	0,49	0,48	0,60	0,17
	medián	1,79	1,84	2,40	1,98	2,20	1,93	1,96	0,70
Prea (g/l)	průměr	0,08 a	0,08 a	0,08 a	0,10 a	0,10 a	0,12 a,b	0,14 a,b	0,27
	SD	0,02	0,02	0,03	0,05	0,06	0,06	0,07	0,05
	medián	0,08	8,00	0,08	0,08	0,09	0,13	0,12	0,30

CRP– C-reaktivní protein, A1A – alfa-1-antitrypsin, TRF – transferin,
 Oroso – orosomukoid, Prea – prealbumin, SD – směrodatná odchylka
 a – statisticky významný rozdíl versus normální laboratorní hodnoty
 b – statisticky významný rozdíl versus hodnoty 1. den

Obrázek č. 5: Krabicový graf – změny koncentrace C-reaktivního proteinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP .

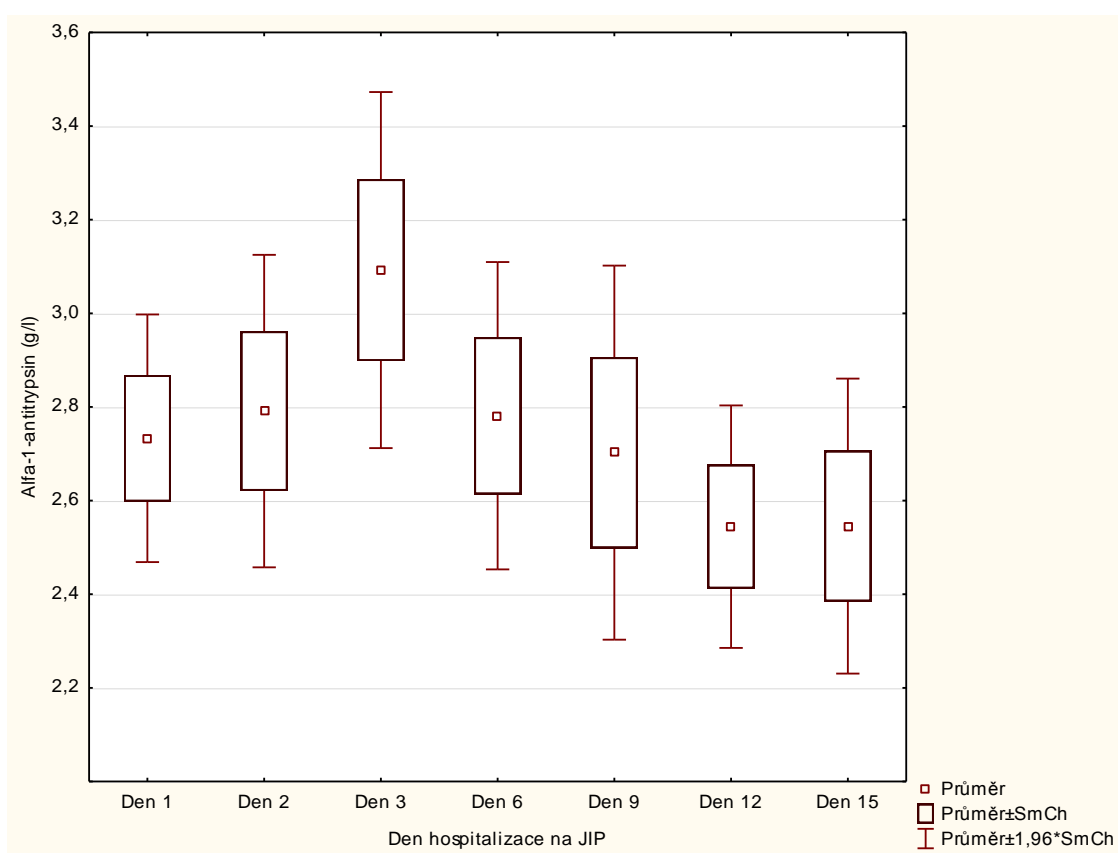


4.2.1.2. Alfa-1-antitrypsin

Alfa-1-antitrypsin má své maximum teprve 3. den sledování a poté až do konce sledovaného období klesá. Hodnoty 3. den jsou statisticky významně vyšší ve srovnání s 12. a 15. dnem sledování. Koncentrace alfa-1-antitrypsinu je také po celé sledované období vyšší, než je norma laboratoře ($p < 0,05$).

Výsledky statistického zpracování vývoje koncentrace alfa-1-antitrypsinu v průběhu 15 dnů hospitalizace jsou shrnuty v tab. č. 8., grafické znázornění viz obrázek č. 6.

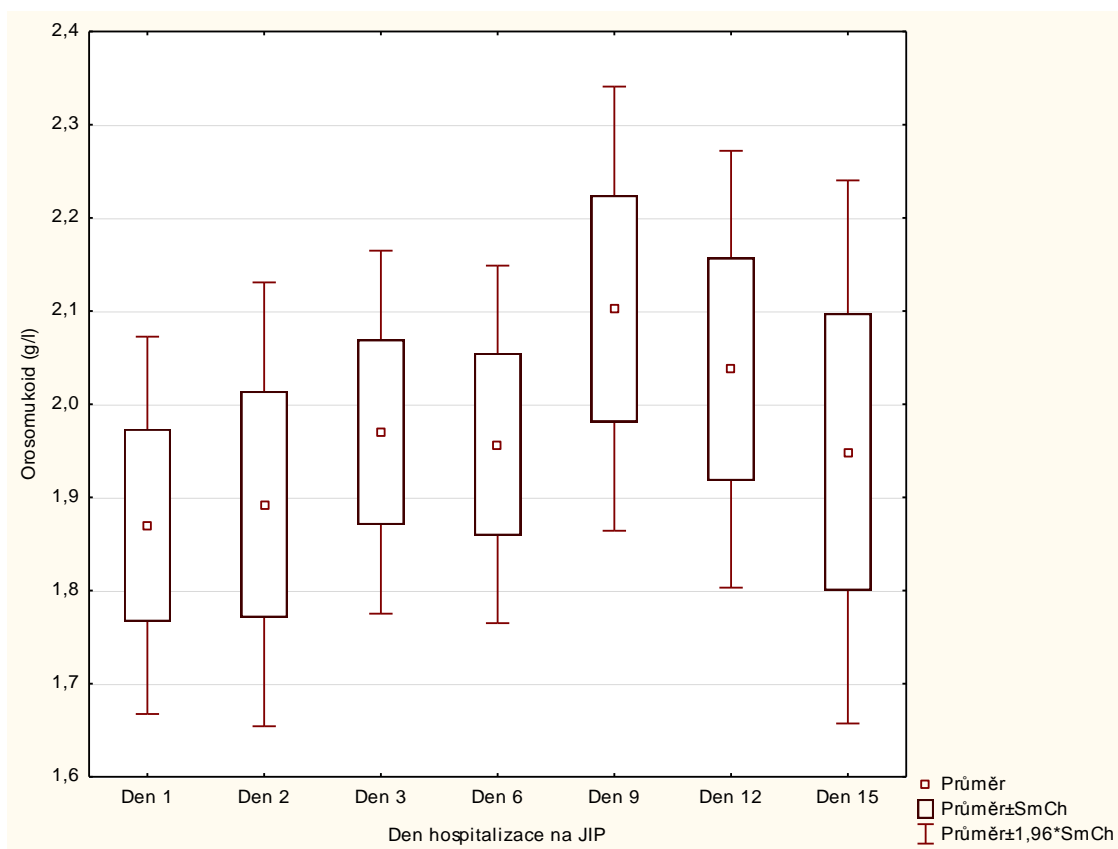
Obrázek č. 6 : Krabicový graf – změny koncentrace alfa-1-antitrypsinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP



4.2.1.3. Orosomukoid

Hladina orosomukoidu je oproti normě laboratoře zvýšená již první den, zůstává stabilní po celou dobu sledování a neklesá ani 15. den po přijetí na JIP (tab. č. 8, graf viz obr. č. 7).

Obrázek č. 7: Krabicový graf – změny koncentrace orosomukoidu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP

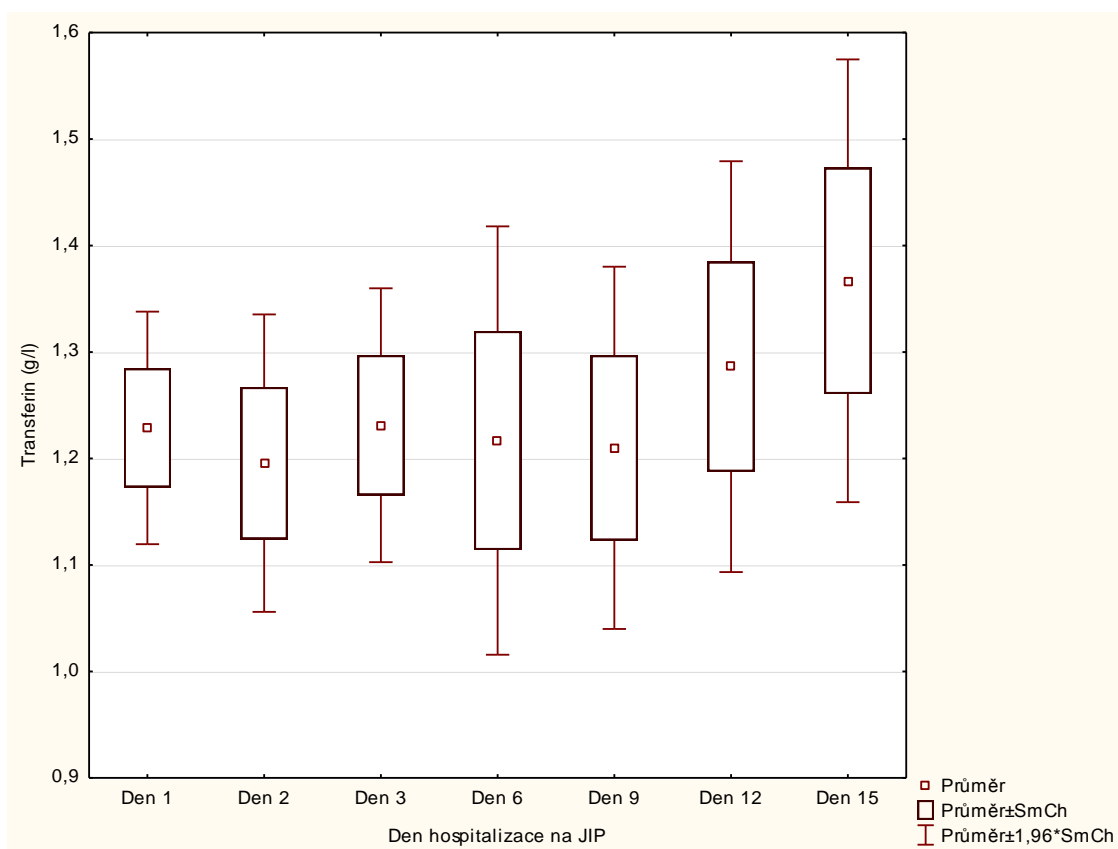


4.2.2. Negativní proteiny akutní fáze

4.2.2.1. Transferin

Hodnoty transferinu jsou od počátku nízké, mírný (statisticky nevýznamný) vzestup byl zaznamenán 12. a 15. den. Zatímco prvních dvanáct dní byly hodnoty významně nižší, než jsou normální hodnoty, 15. den již nebyl statisticky významný rozdíl zjištěn (tab. č. 8, graf viz obr. č. 8).

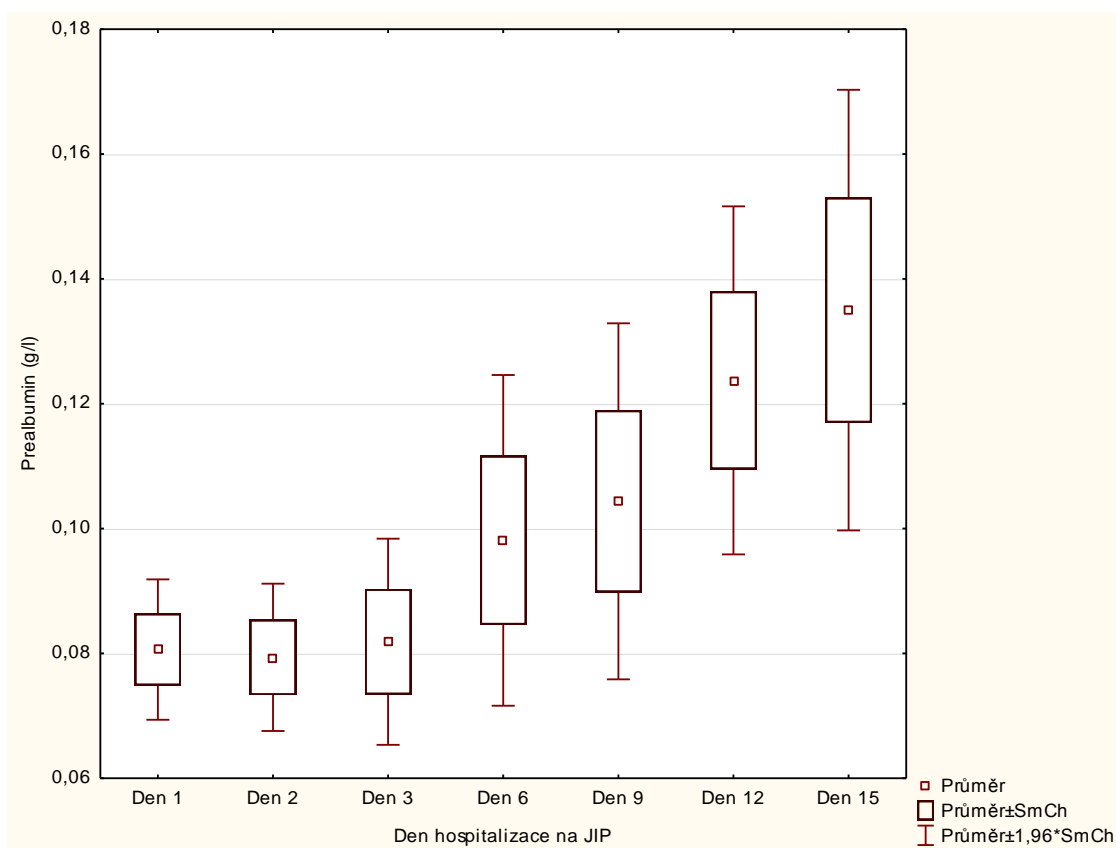
Obrázek č. 8: Krabicový graf – změny koncentrace transferinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP



4.2.2.2.Prealbumin

Dynamika negativního proteinu akutní fáze prealbuminu se podle vyvíjí v opačném směru než CRP a další pozitivní proteiny akutní fáze. Z počátečních hodnot, které jsou nejnižší prvé dva dny, stoupá ke konci sledování s maximem 12. a 15. den (proti 1. dnu $p < 0,05$). Nicméně i poslední dny sledování zůstávají hodnoty hluboko pod normou (obr. č. 9, tab. č. 8).

Obrázek č. 9: Krabicový graf – změny koncentrace prealbumin u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP



4.2.3. Interleukin 6

Hladina IL-6 je zvýšena již v den přijetí pacientů na JIP, poté klesá a nejnižší hodnoty jsou zaznamenány 9. až 15. den (proti počátku $p < 0,05$) (tab. č. 9 a obr. č. 10).

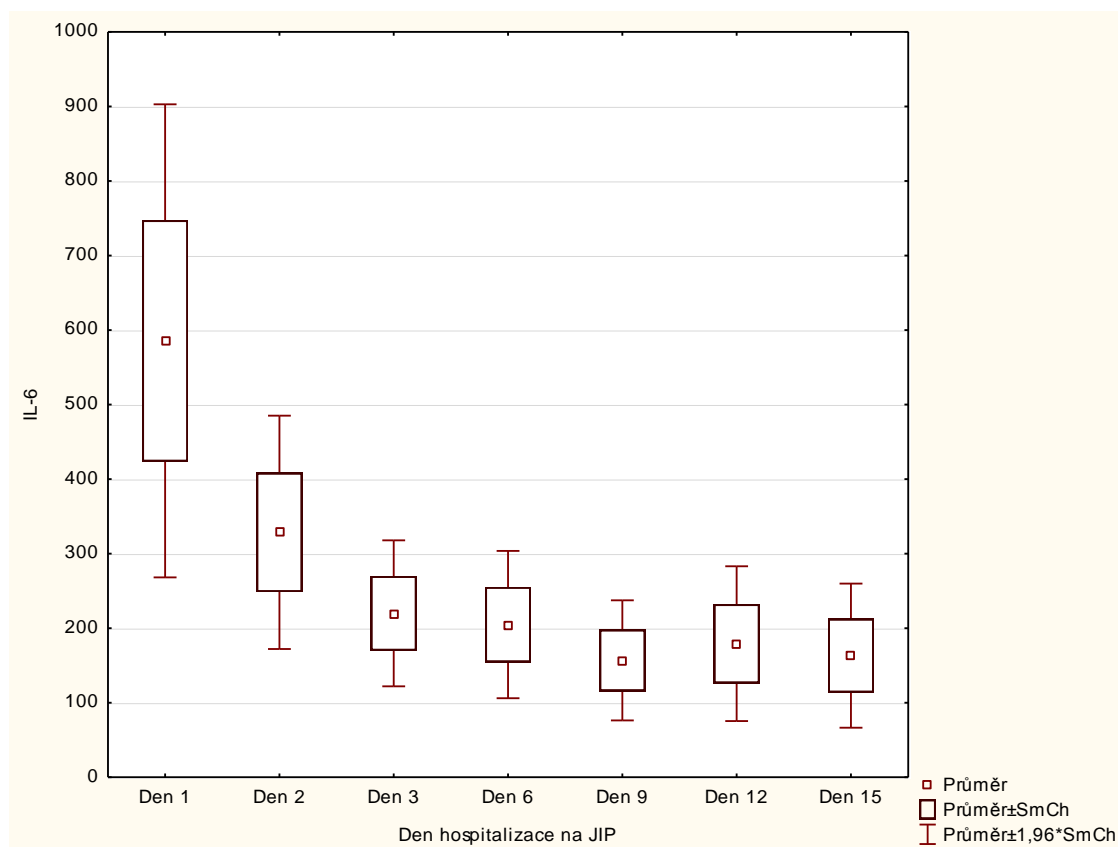
Tabulka č. 9 : Změny koncentrace interleukinu 6 u pacientů se závažnou sepsí v průběhu 15 dní

		1. den	2. den	3. den	6. den	9. den	12. den	15. den	Norm. lab. hodnoty
IL-6 (pg/ml)	průměr	585,56 a	328,58 a	219,93 a, b	204,87 a, b	156,82 a, b	179,36 a, b	163,07 a, b	98,50
	SD	647,71	319,37	193,47	195,06	159,11	198,28	191,11	75,40
	medián	397,63	201,38	198,48	138,52	95,00	114,91	105,14	88,70

a – statisticky významný rozdíl versus normální laboratorní hodnoty

b – statisticky významný rozdíl versus hodnoty 1. den

Obrázek č. 10: Krabicový graf – změny koncentrace interleukinu 6 u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP



4.2.4. Markery hemostázy

4.2.4.1.D-dimer

Průměrná koncentrace D-dimeru je nejvyšší prvých 6 dní sledování, poté jeho hodnoty klesají a 15. den dosahují statisticky významně nižších hodnot ve srovnání s prvním dnem sledování ($p < 0,05$) (tab. č. 10; obr. č. 11).

Tabulka č. 10: Dynamika změn koagulačních markerů u pacientů se závažnou sepsí v průběhu 15 dní

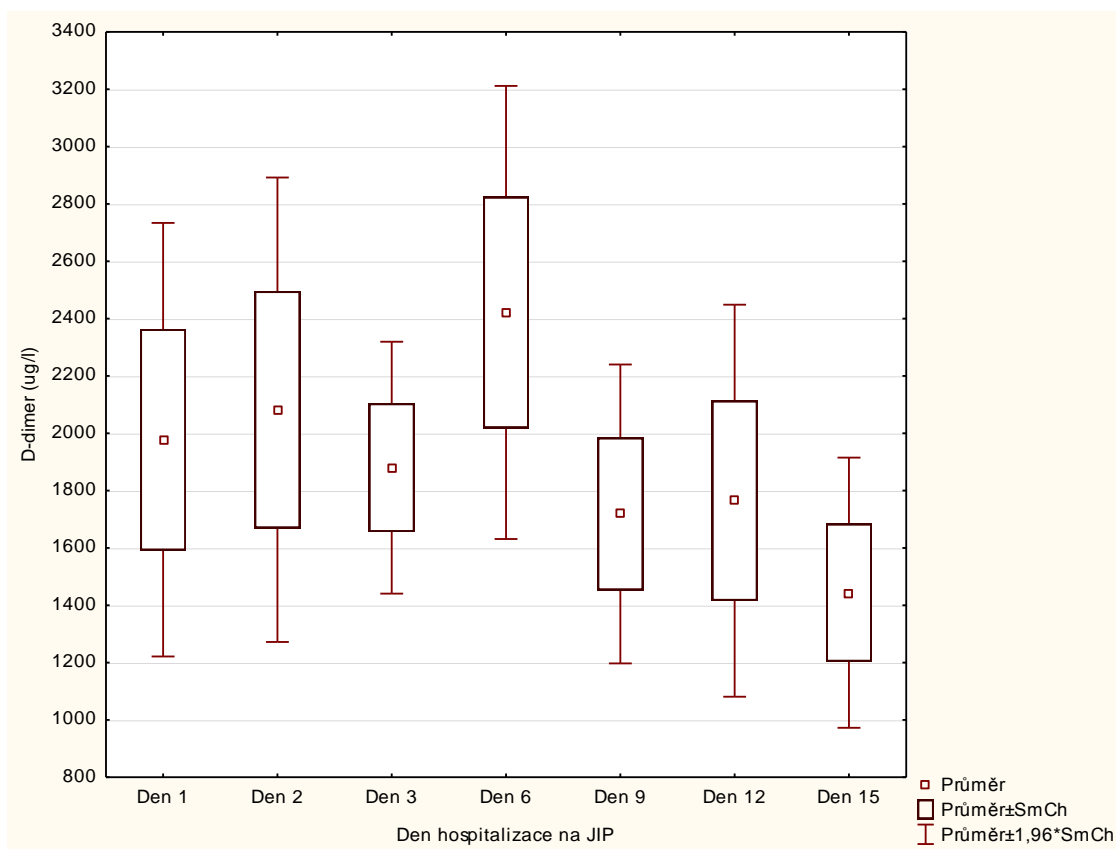
		1. den	2. den	3. den	6. den	9. den	12. den	15. den	Norm lab. hodnoty
D-dimer (μg/l)	průměr	1978 a	2082 a	1880 a	2421 a	1719 a	1765 a	1444 a,b	186
	SD	1543	1653	897	1613	1064	1396	962	70
	medián	1423	1385	1445	2053	1445	1274	1040	187
Fbg (g/l)	průměr	7,30 a	7,23 a	7,41 a	6,84 a	7,35 a	7,38 a	6,84 a	3,13
	SD	1,29	1,40	1,16	1,65	1,10	1,70	1,25	0,56
	medián	7,15	7,10	7,95	6,80	7,45	7,65	6,85	3,10
F 1+2 (pmol/l)	průměr	0,62 a	0,64 a	0,54 a	0,51 a	0,43 a	0,40 a,b	0,43 a	0,20
	SD	0,37	0,41	0,35	0,38	0,33	0,36	0,31	0,10
	medián	0,57	0,65	0,46	0,39	0,33	0,27	0,40	0,20
PC (%)	průměr	62,40 a	65,25 a	72,31 a	77,67 a	86,27 a,b	90,00 b	94,44 b	104,75
	SD	22,92	25,90	29,78	27,23	32,08	33,10	31,88	19,10
	medián	67,00	65,50	78,00	79,00	85,00	95,50	101,50	104,6
AT (%)	průměr	61,06 a	62,19 a	63,13 a	64,31 a	69,81 a	71,13 a	70,19 a	100,50
	SD	14,94	11,65	12,62	20,93	20,91	17,76	19,74	11,90

Fbg – fibrinogen, F 1+2 – fragment 1 a 2 protrombinu, PC – protein C, AT – antitrombin.

a – statisticky významný rozdíl versus normální laboratorní hodnoty

b – statisticky významný rozdíl versus hodnoty 1. den

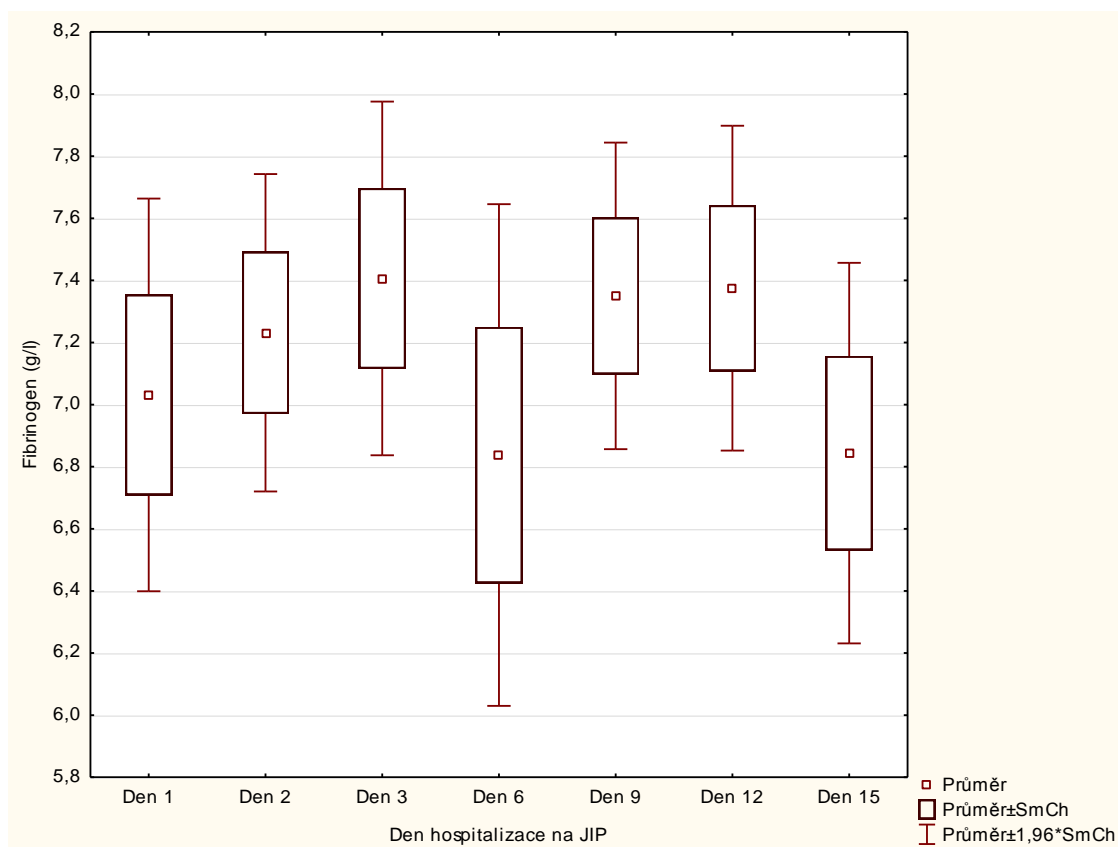
Obrázek č. 11: Krabicový graf – změny koncentrace D-dimeru u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP



4.2.4.2.Fibrinogen

Koncentrace fibrinogenu zůstává zvýšená proti normě laboratoře v celém průběhu studie ($p < 0,05$). V průběhu sledování nebyl zaznamenán významný nárůst ani pokles jeho hodnot (tab. č. 10, obr. č. 12).

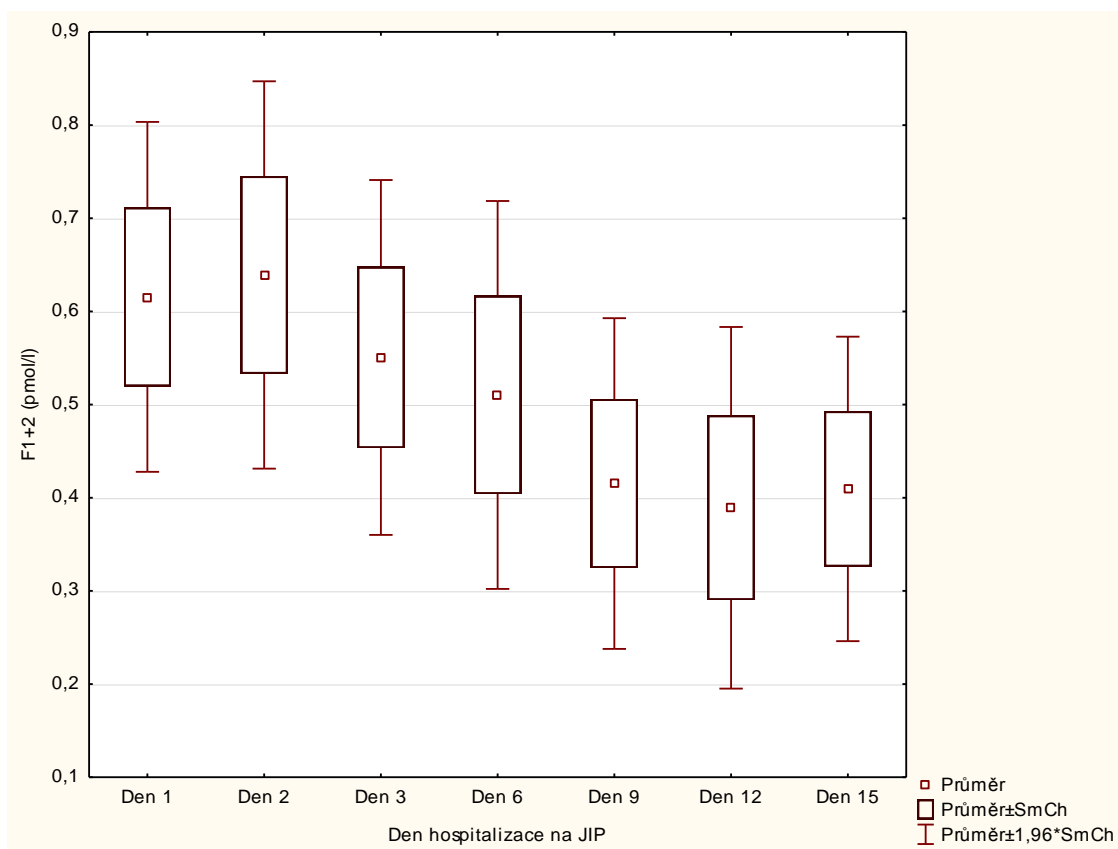
Obrázek č. 12: Krabicový graf – změny koncentrace fibrinogenu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP



4.2.4.3.F 1+2 fragmenty protrombinu

Koncentrace F 1+2 postupně klesá, 12. den sledování je statisticky významně nižší hodnota ve srovnání s hodnotami prvního a druhého dne ($p < 0,05$) (obr. č. 13).

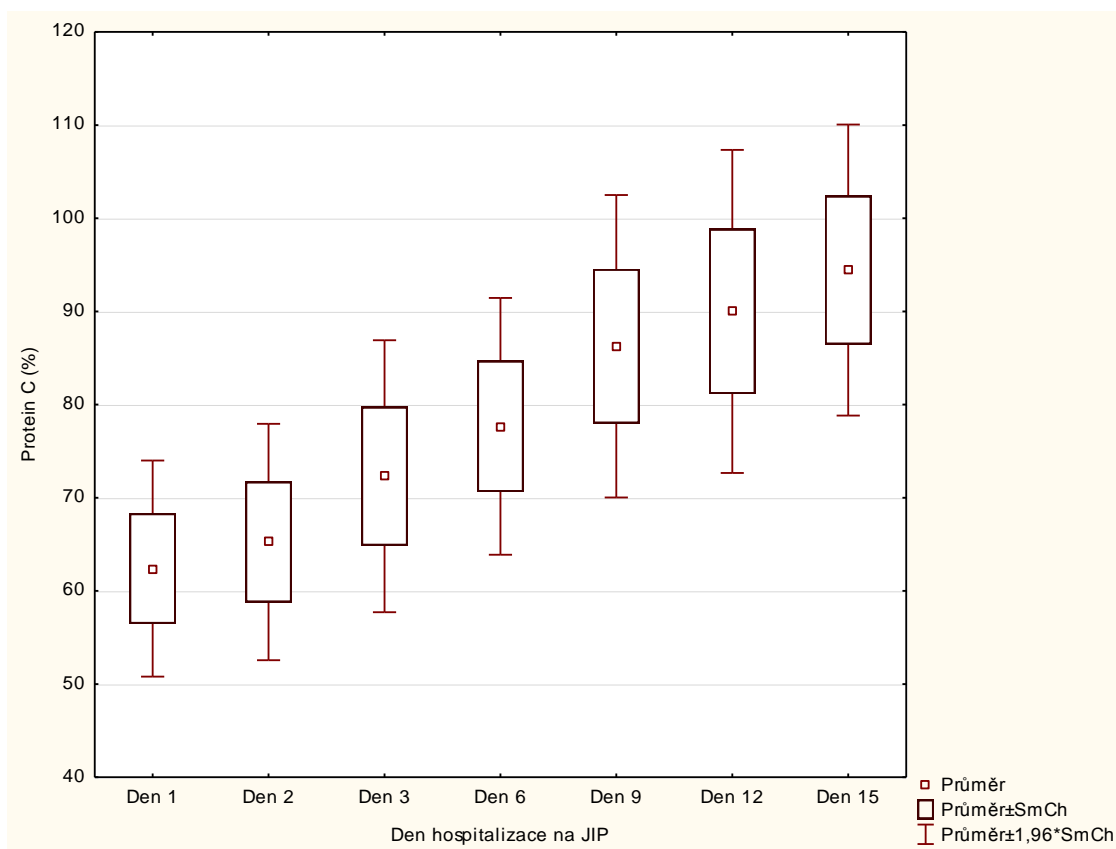
Obrázek č. 13: Krabicový graf – změny koncentrace protrombinových fragmentů F1+2 u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP



4.2.4.4. Protein C

Protein C se postupně zvyšuje ke konci sledované doby, 12. a 15. den nejsou již výsledky významně rozdílné od normálních hodnot laboratoře (obr.č. 14; tab. č. 10).

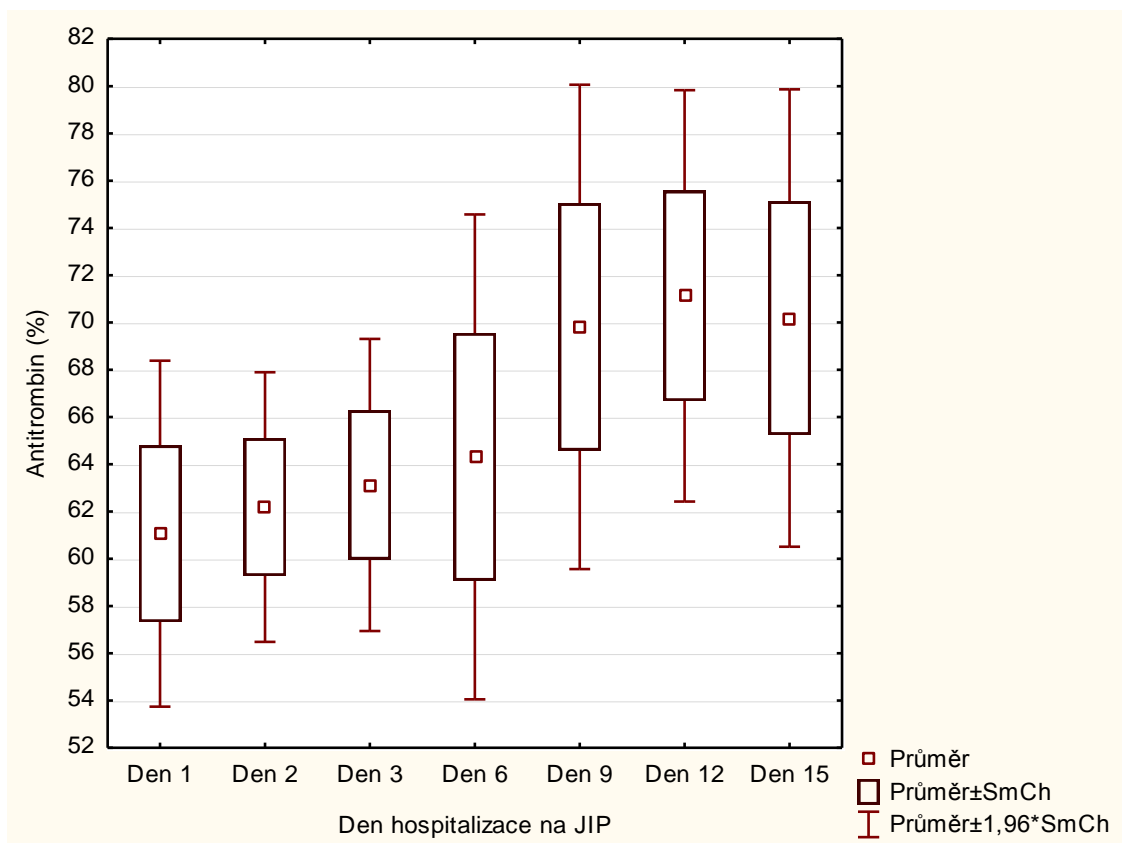
Obrázek č. 14: Krabicový graf – změny aktivity proteinu C u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP



4.2.4.5. Antitrombin

Průměrná aktivita AT se pohybuje v průběhu 15 dní mezi 60 a 72 procenty, nedosahuje tedy nikdy hodnot normy laboratoře. Rozdíly mezi jednotlivými dny sledování nejsou statisticky významné, je však patrný mírný vzestup jeho hodnot během celého sledování (tab. č. 10; obr. č. 15).

Obrázek č. 15: Krabicový graf – změny aktivity antitrombinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP



4.2.5. Cytoadhezivní molekuly

4.2.5.1. s ICAM-1

Průměrné koncentrace sICAM-1 mají od počátku mírný vzestupný trend. Díky velkému rozptylu hodnot tyto změny však nejsou statisticky významné (tab. č. 11, obr. č. 16).

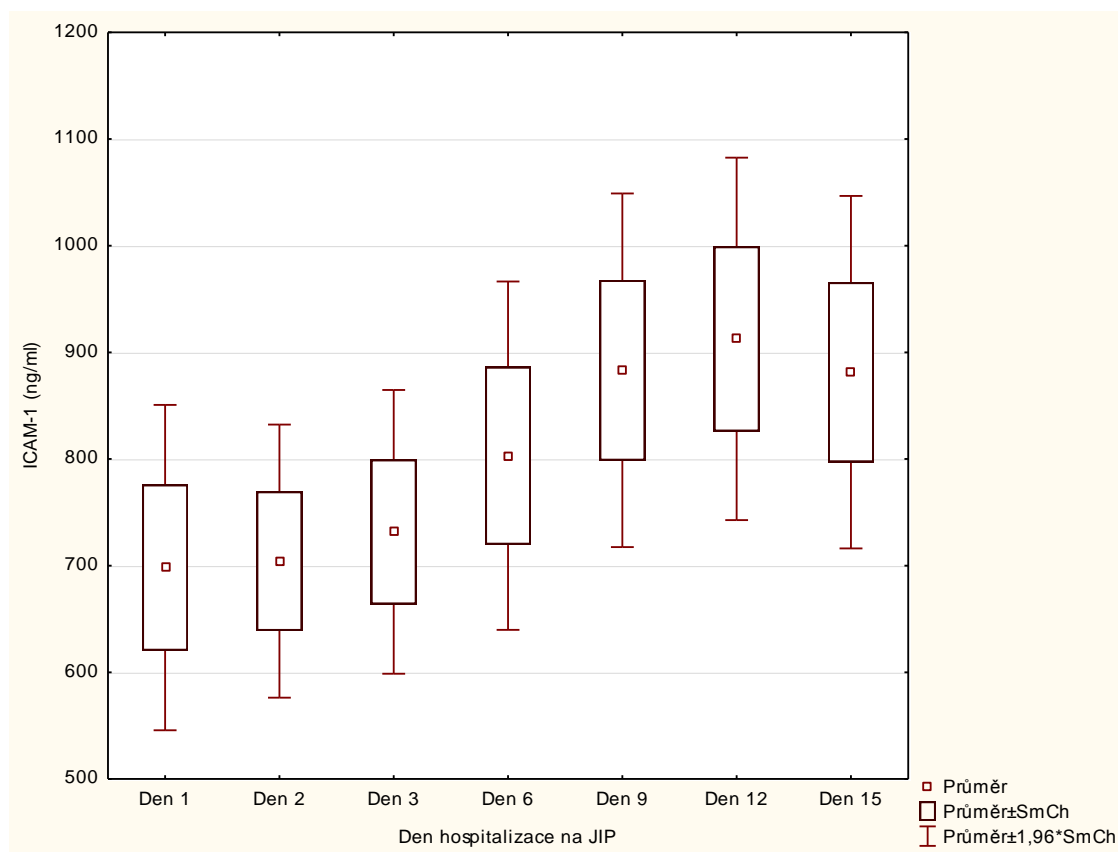
Tabulka č. 11: Dynamika změn koncentrace cytoadhezivních molekul pacientů se závažnou sepsí v průběhu 15

		1. den	2. den	3. den	6. den	9. den	12. den	15. den	Normál. lab. hodnoty
sE-sel (ng/ml)	průměr	81,51	72,80	70,20	57,79	56,22	54,26	63,16	
	SD	101,15	78,76	64,93	27,60	27,36	22,90	48,83	
	medián	61,90	53,20	59,33	52,80	55,39	58,59	59,54	32,6
sP-sel (ng/ml)	průměr	86,20	81,94	94,42	111,72	116,62	135,43	141,31 b	134,5
	SD	36,68	39,93	32,65	30,80	39,03	47,44	88,46	79,0
	medián	77,06	65,28	85,20	106,96	108,77	121,80	107,78	
sICAM (ng/ml)	průměr	698,24	704,27	731,68	803,09	883,16	912,59	881,38	213,5
	SD	311,29	261,32	262,82	322,67	327,57	324,36	315,46	82,6
	medián	630,30	691,01	755,86	701,56	848,57	911,49	823,76	

sE-sel – sérový *E*-selektin, *sP-sel* – sérový *P*-selektin, *SD* – směrodatná odchylka

b – statisticky významný rozdíl versus hodnoty 1. den

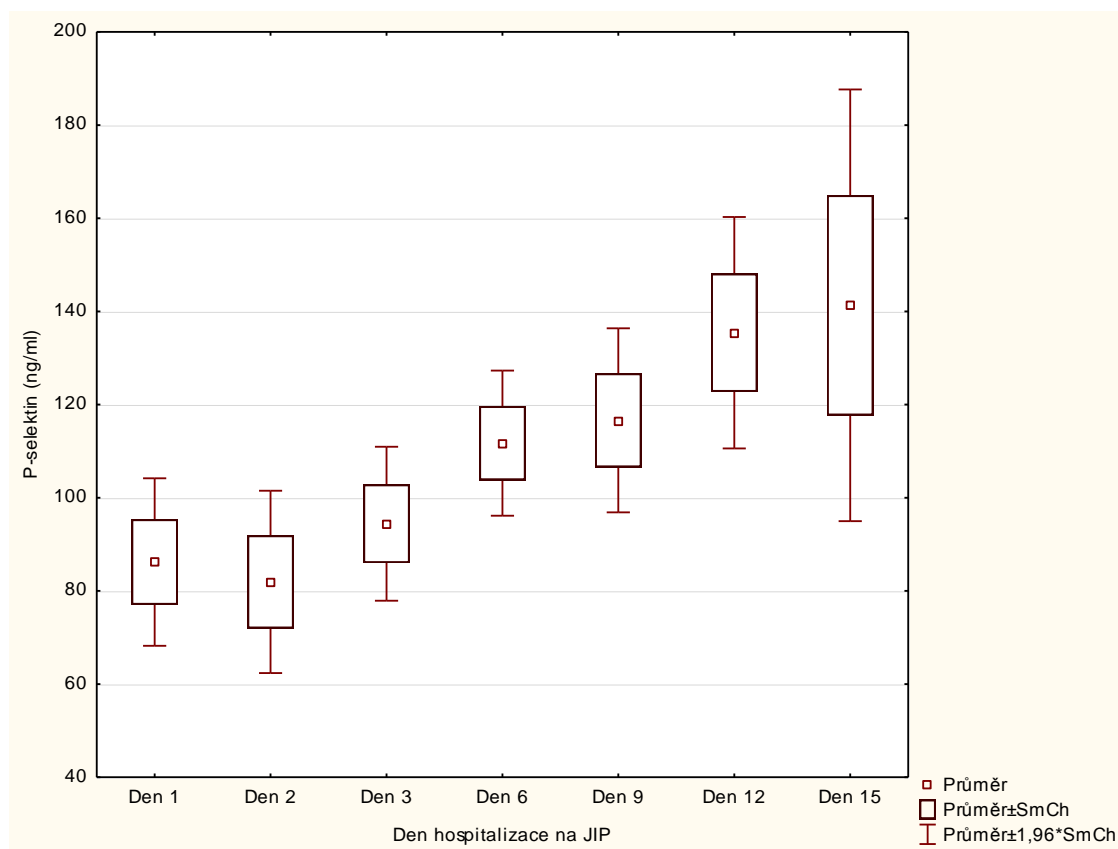
Obrázek č. 16: Krabicový graf – změny koncentrace sICAM u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP



4.2.5.2. sP-selektin

Hodnoty sP-selektinu jsou nejnižší prvé 2 dny sledování, následuje od třetího dne postupný nárůst koncentrace. Patnáctý den dosáhnou maxima, které je statisticky významně vyšší v porovnání s prvním dnem (tab. č. 11, obr. č. 17).

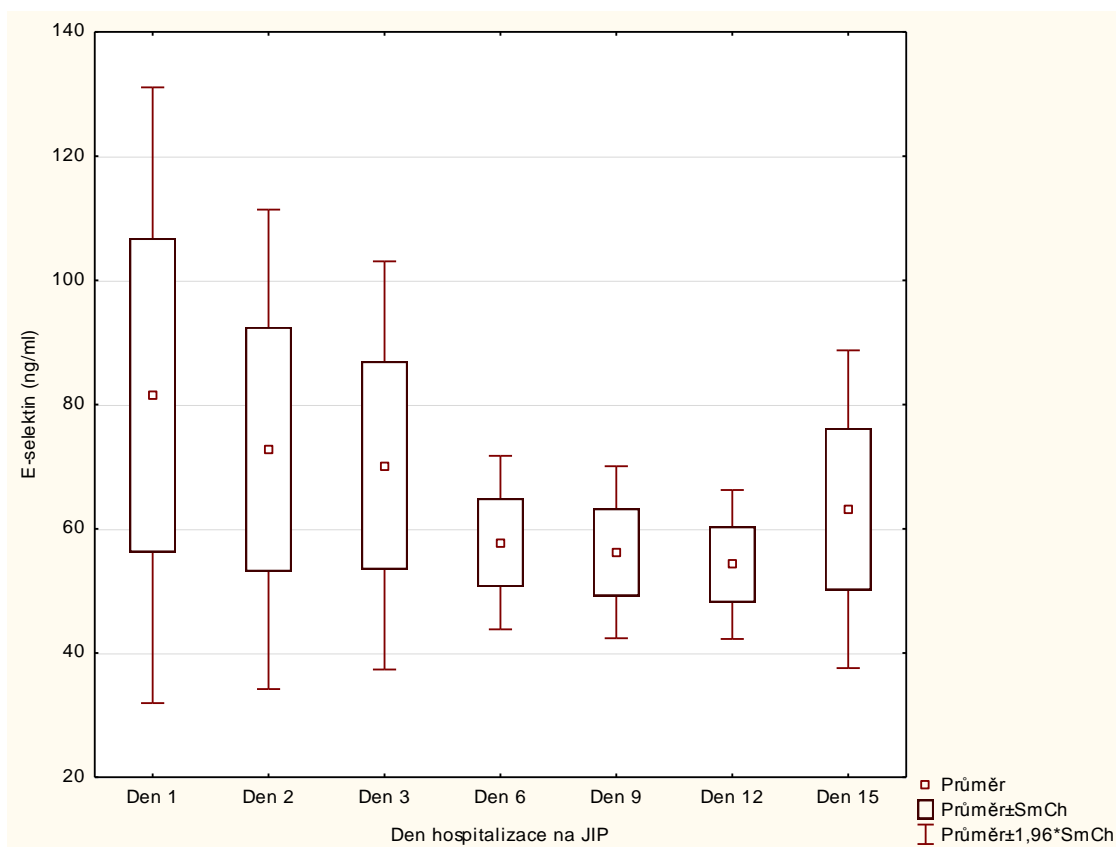
Obrázek č. 17: Krabicový graf – změny koncentrace P-selektinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP



4.2.5.3.sE-selektin

Průměrné hodnoty sE-selektinu mají naopak mírnou klesající tendenci, tyto změny však nedosahují statisticky významných hodnot (tab. č. 11, obr. č. 18).

Obrázek č. 18: Krabicový graf – změny koncentrace E-selektinu u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP

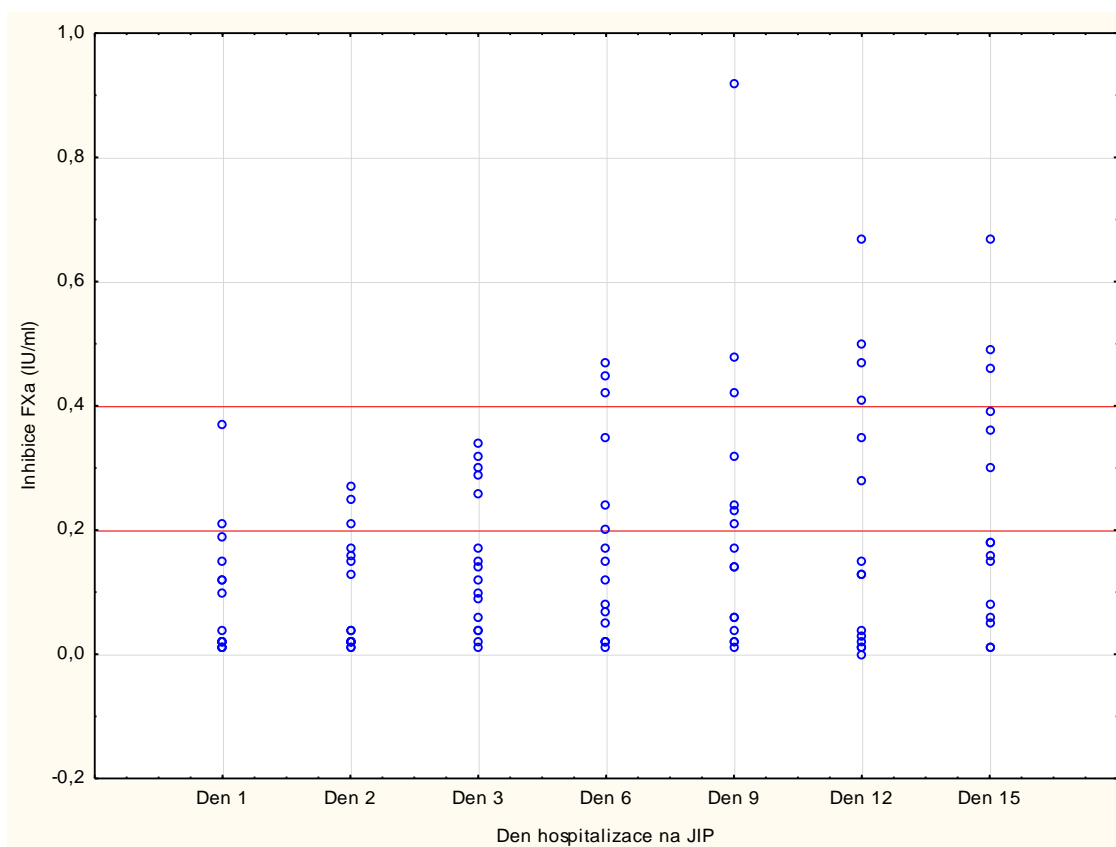


4.3. Inhibice faktoru Xa při doporučené profylaxi subkutánně podávaným LMWH

U všech sledovaných pacientů bylo v průběhu jejich léčby na JIP provedeno celkem 109 vyšetření inhibice F Xa (odběr krve 4 hodiny po profylaktické dávce enoxaparinu 40mg s.c.). Tři měření v celkovém počtu chybí z důvodu ukončení podávání profylaktických dávek enoxaparinu u pacienta s diagnostikovanou HŽT a zahájení podávání terapeutických dávek

heparinu intravenózně. Průměrná inhibice F Xa z těchto měření byla 0,169 IU/ml ($\pm 0,173$), profylaktického rozmezí 0,2-0,4 IU/ml bylo dosaženo jen v 22 případech (20 % z celkového počtu vyšetření), 77x (71 %) byla inhibice F Xa snížena pod profylaktické rozmezí, 10x (9 %) byla hodnota inhibice F Xa naopak zvýšena $> 0,4$ IU/ml. Všichni pacienti měli minimálně jednu subprofylaktické hodnoty inhibice F Xa, 5 pacientů (31 %) mělo hodnoty pod doporučeným rozmezím po celou dobu sledování (obr. č. 19).

Obrázek č. 19: Bodový graf – inhibice faktoru Xa (měřeno 4 hodiny po s.c. aplikaci enoxaparinu) u pacientů se závažnou sepsí v průběhu 15t denního sledování



— profylaktické rozmezí inhibice F Xa (0,2-0,4 IU/l)

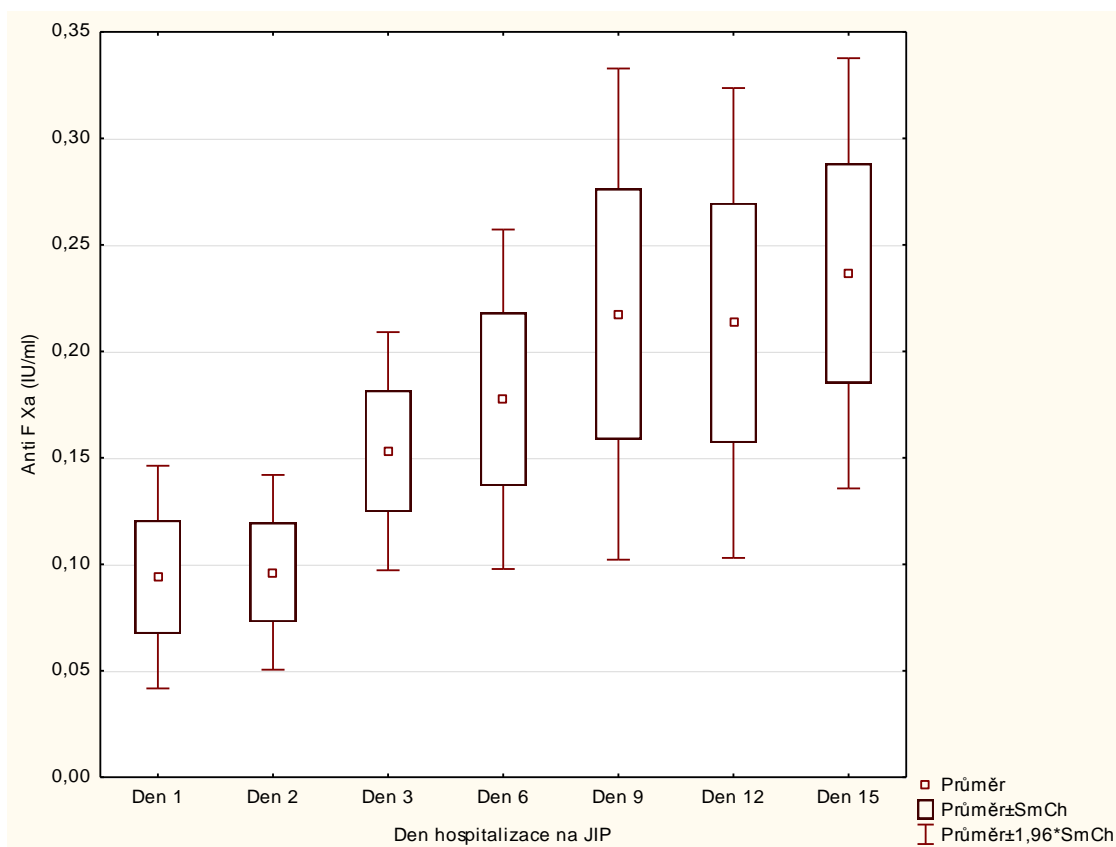
Výsledky popisné statistiky jsou zpracovány v tab. č. 12. Grafické znázornění hodnot dosažené inhibice F Xa v průběhu sledování je znázorněno v grafu (obrázek č. 20). K nárůstu hodnot inhibice F Xa docházelo až na konci sledovaného období 9.– 15. den, kdy se průměrné hodnoty již pohybovaly v profylaktickém rozmezí. Patnáctý den je průměrná inhibice F Xa zvýšena ve srovnání s hodnotami 1. a 2. den ($p < 0,05$).

Tabulka č. 12: Změny inhibice F Xa v průběhu 15 dní u pacientů se závažnou sepsí

	<i>1. den</i>	<i>2. den</i>	<i>3. den</i>	<i>6. den</i>	<i>9. den</i>	<i>12. den</i>	<i>15. den</i>
průměr	0,09	0,10	0,15	0,18	0,22	0,21	0,24
SD	0,10	0,09	0,11	0,16	0,24	0,22	0,20
median	0,04	0,04	0,13	0,14	0,16	0,13	0,18

SD – směrodatná odchylka

Obrázek č. 20: Krabicový graf – změny inhibice F Xa u pacientů se sepsí v průběhu 15 dnů hospitalizace na JIP

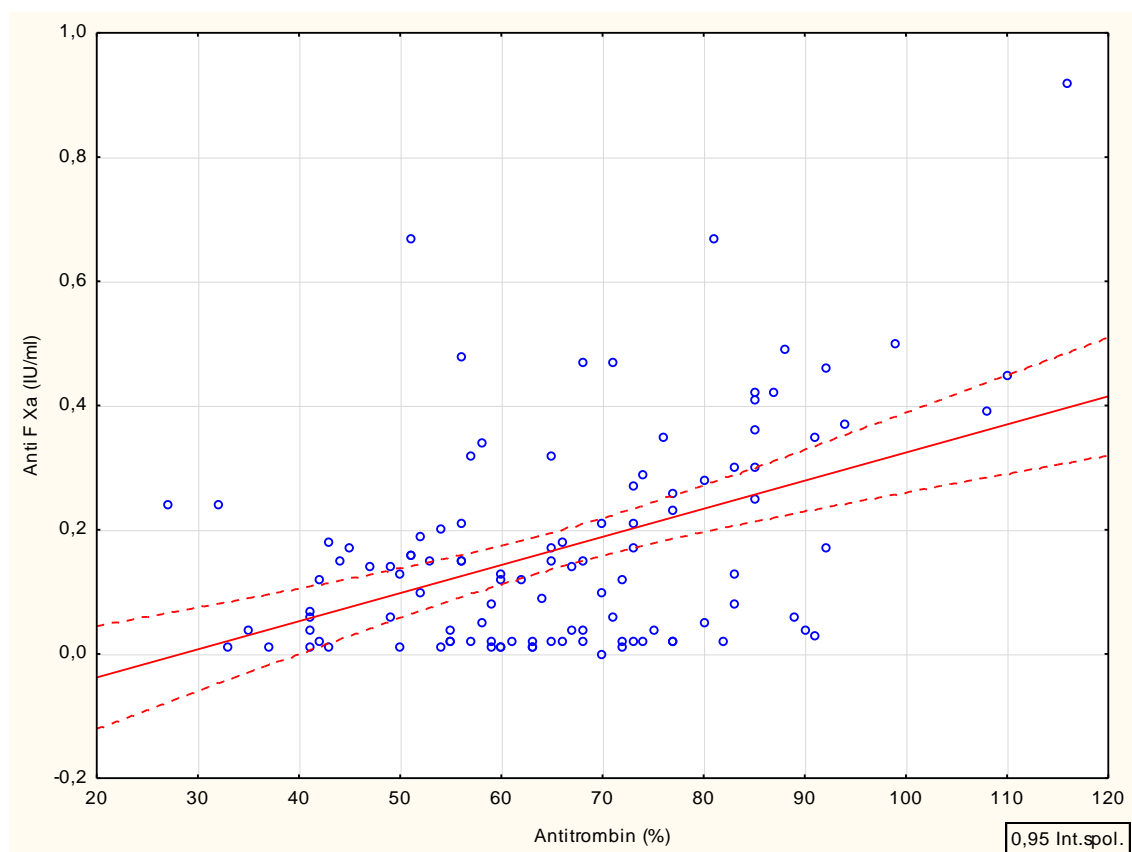


4.4. Vliv vybraných parametrů na efekt subkutánně podávaného nízkomolekulárního heparinu

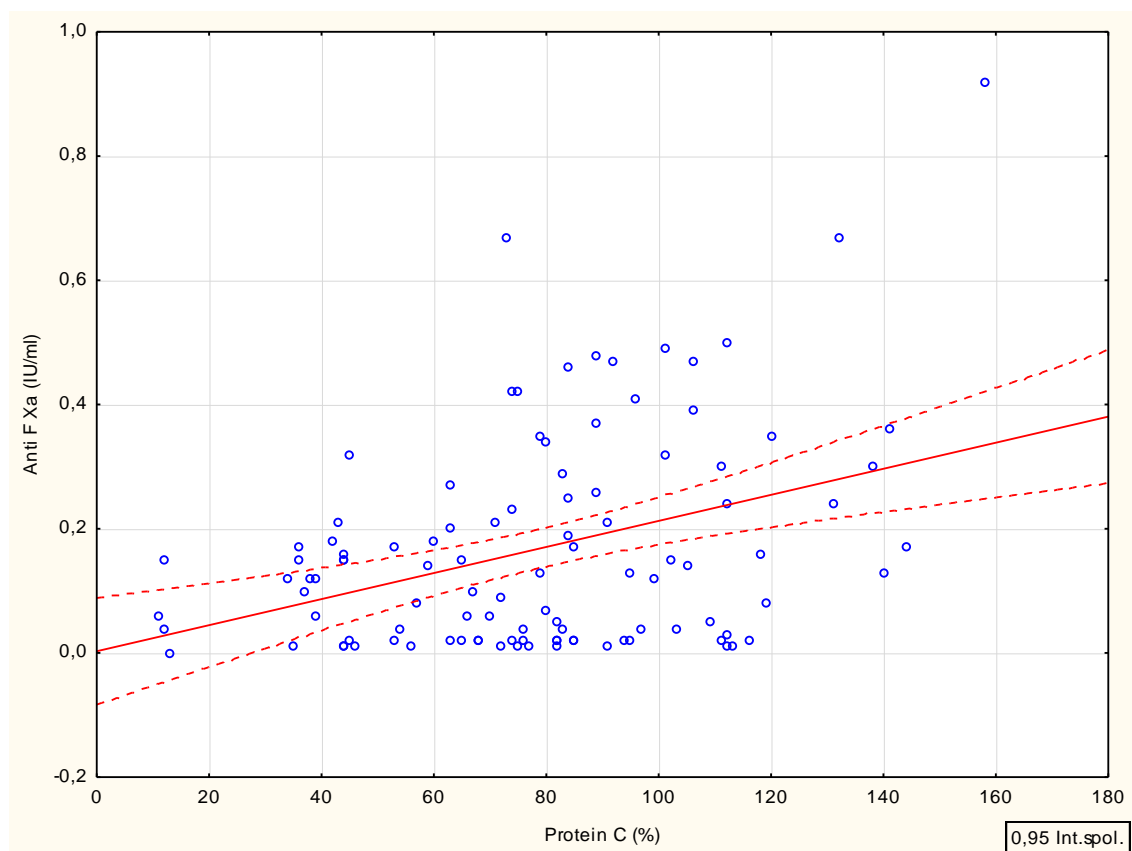
Pokud sledujeme celé období patnácti dnů, výše inhibice F Xa zde pozitivně koreluje s výší aktivity antitrombinu ($r = 0,42$; $p < 0,001$) a proteinu C ($r = 0,45$; $p < 0,001$). Pozitivní korelace byla rovněž nalezena mezi výší inhibice F Xa a koncentrací prealbuminu ($r = 0,46$; $p < 0,001$). Negativní korelace byla též nalezena mezi výší inhibice F Xa a koncentrací fragmentů

protrombinu F 1+2 ($r = -0,27$; $p = 0,015$). Vzájemné vztahy inhibice F Xa a výše uvedených parametrů jsou graficky znázorněny na obrázcích č. 21– 24.

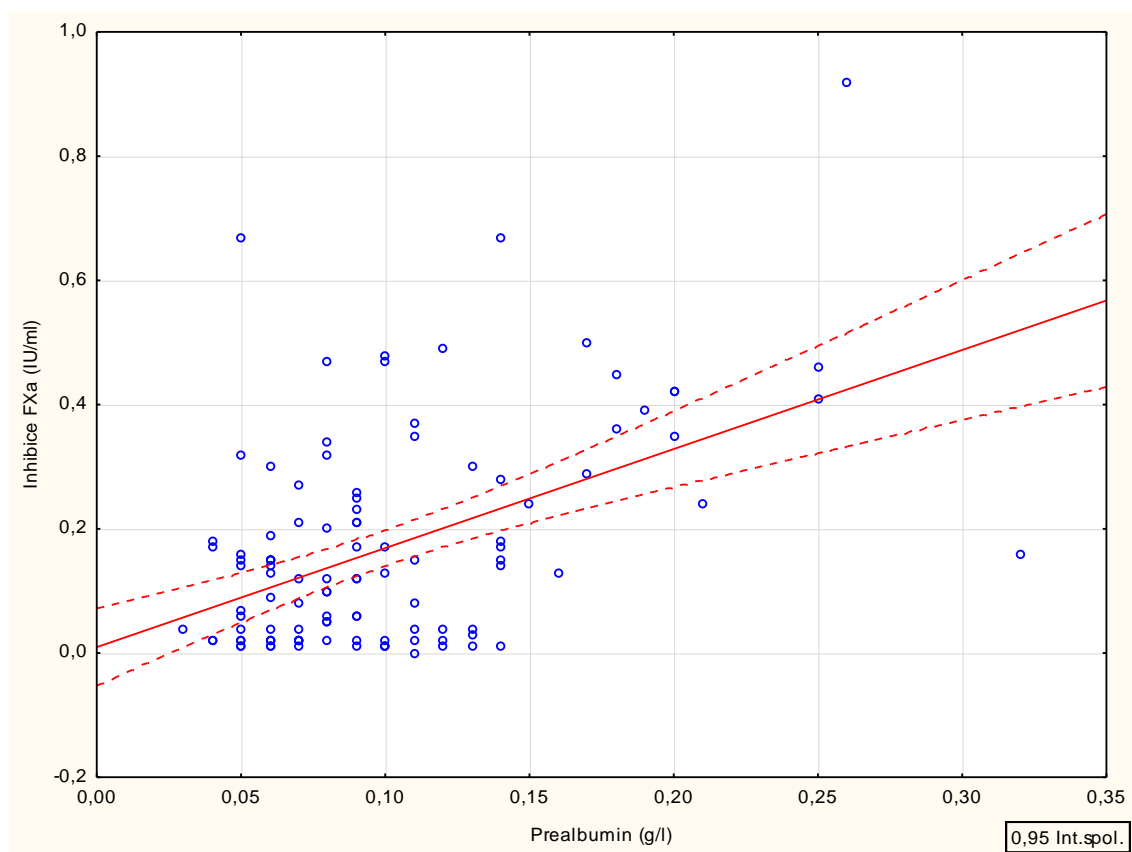
Obrázek č. 21: *Graf lineární regrese – vztah inhibice F Xa a aktivity antitrombinu*



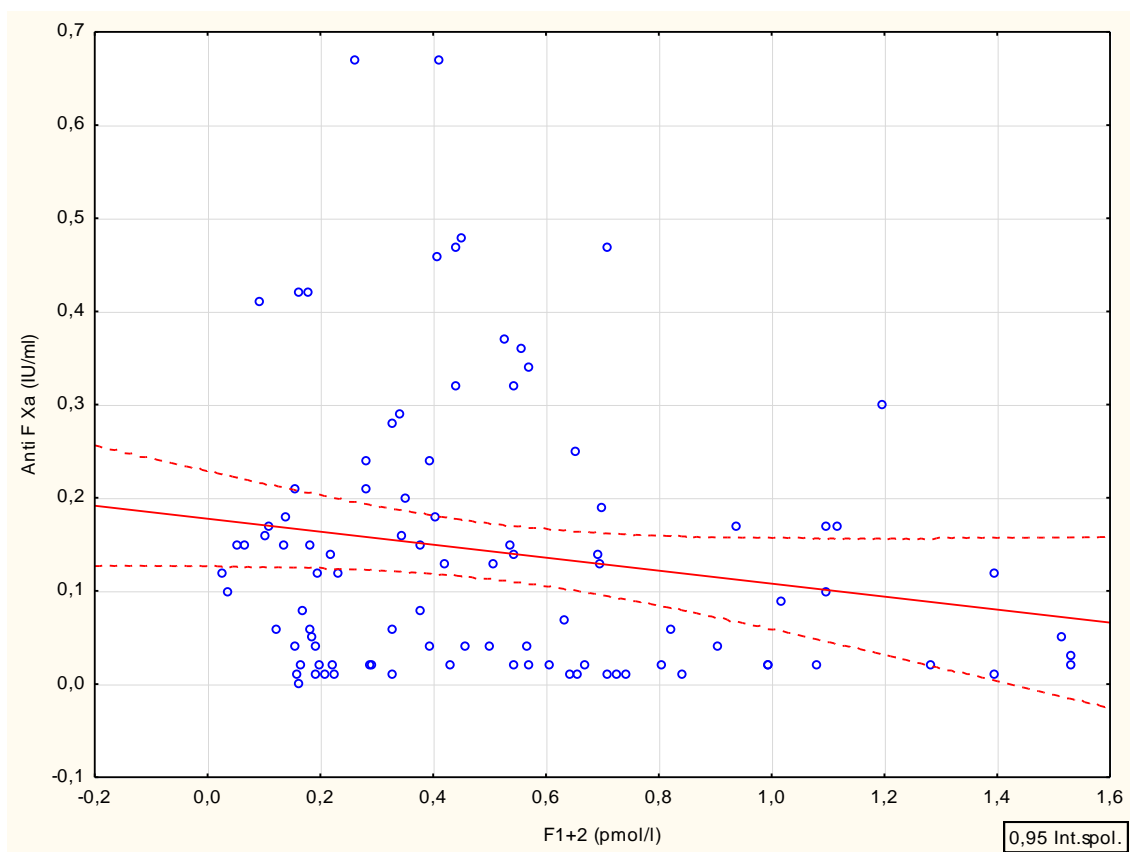
Obrázek č. 22: Graf lineární regrese – vztah inhibice F Xa a aktivity proteinu C



Obrázek č. 23: Graf lineární regrese – vztah inhibice F Xa a koncentrace prealbuminu

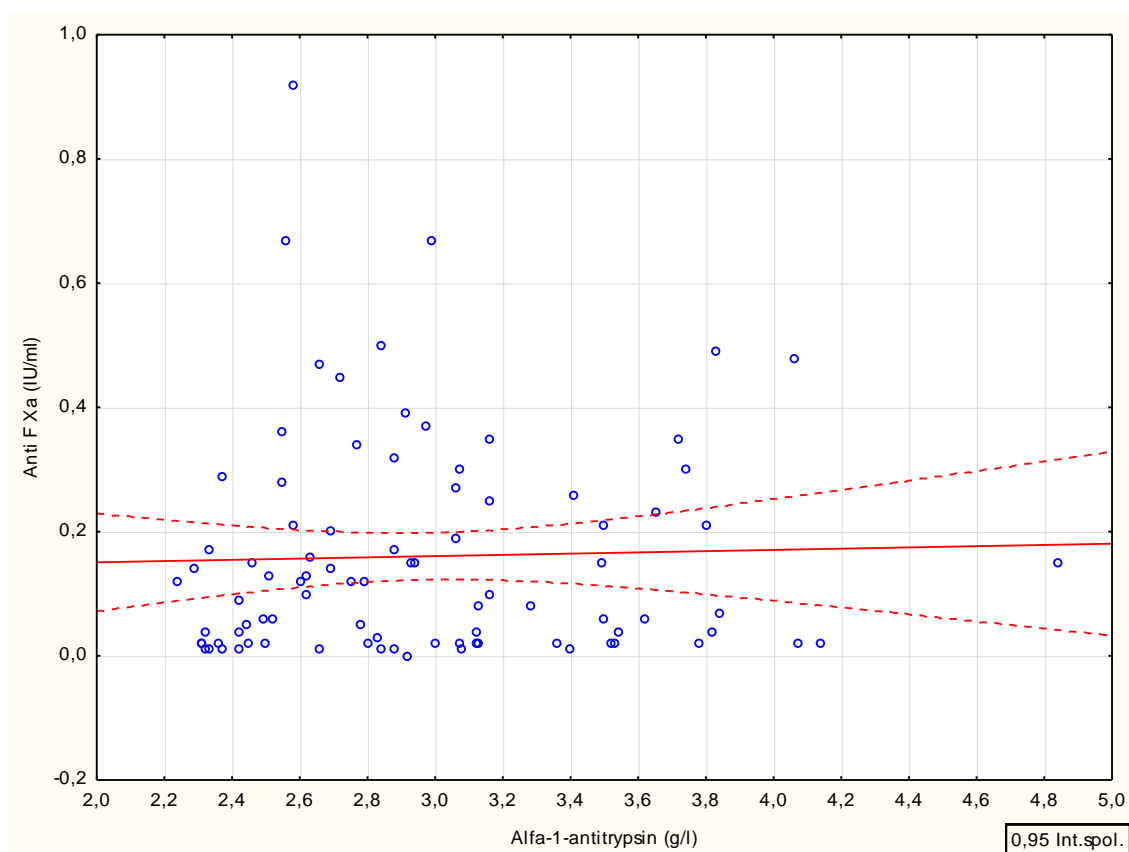


Obrázek č. 24: Graf lineární regrese – vztah inhibice F Xa a koncentrace fragmentů protrombinu F 1+2



Statisticky významná korelace mezi výší inhibice F Xa a koncentrací alfa-1-antitrypsinu nebyla nalezena. Tato korelace byla zjištěna pouze ve skupině pacientů s koncentrací alfa-1-antitrypsinu $\geq 2,2$ g/l ($r = -0,33$; $p = 0,01$). Vzájemný vztah obou veličin je graficky znázorněn na obrázku č. 25.

Obrázek č. 25: Graf lineární regrese – vztah inhibice F Xa a koncentrace alfa-1-antitrypsinu ve skupině pacientů s hladinou alfa-1-antitrypsinu vyšší než 2,2 g/l



Mezi inhibicí F Xa a dalšími sledovanými parametry (CRP, orosomukoid, IL-6, fibrinogen, arteriální tlak, hmotnost a BMI) již k statisticky významné korelaci nedocházelo.

Pearsonův korelační test neprokázal statisticky významnou korelaci mezi následujícími proměnnými: clearance kreatininu první den versus inhibice F Xa v 2., 3., 6., 9., 12. a 15. den

Byl prokázán statisticky významný rozdíl v hodnotách inhibice F Xa ve skupině s aktivitou antitrombinu ≥ 70 % (anti F Xa: $r = 0,24$) ve srovnání se skupinou, kde aktivita antitrombinu byla < 70 % (anti F Xa: $r = 0,12$); ($t = 3,79$; $p < 0,001$).

Nebyly nalezeny rozdíly ve výši dosažené inhibice F Xa mezi skupinou pacientů s katecholaminovou podporou noradrenalinem ($r = 0,19 \pm \text{SD } 0,18$) a skupinou pacientů bez této léčby ($r = 0,16 \pm \text{SD } 0,17$).

4.5. Vzájemný vztah závažnosti klinického stavu pacienta a vybraných parametrů hemostázy a zánětlivé reakce

4.5.1. Vztah hemostázy a klinického stavu pacienta

Výsledky statistického zhodnocení vzájemného vztahu klinického hodnocení stavu pacientů se závažnou sepsí pomocí skórovacích systémů APACHE II, SAPS II, míry orgánového selhání měřeného pomocí SOFA skóre a jednotlivými parametry hemostázy (aPTT, INR, fibrinogen, D-dimer, F 1+2 fragmenty protrombinu, inhibice F Xa, aktivita PC a AT) jsou uvedeny v tab.č.13.

Tabulka č. 13: Vztah klinických skórovacích systémů a parametrů hemostázy

	<i>SOFA</i>	<i>SAPS II</i>	<i>APACHE II</i>
aPTT	0,2356 p = 0,022	0,3099 p = 0,002	0,4311 p = 0,000
INR	0,1823 p = 0,079	0,241 p = 0,019	0,3346 p = 0,001
inhibice F Xa	0,0654 p = 0,531	-0,0382 p = 0,714	-0,0424 p = 0,685
AT	-0,3535 p = 0,000	-0,2552 p = 0,013	-0,4929 p = 0,000
D-dimer	0,0901 p = 0,388	-0,1228 p = 0,238	-0,0762 p = 0,465
Fbg	0,0098 p = 0,925	-0,0408 p = 0,696	0,0818 p = 0,433
PC	-0,2697 p = 0,009	-0,4209 p = 0,000	-0,4922 p = 0,000
F 1+2	-0,0397 p = 0,704	-0,469 p = 0,000	-0,4573 p = 0,000

Hodnoty korelačního koeficientu (r) s uvedením hodnoty hladiny statistické významnosti (p); červeně vyznačeny statisticky významné korelace $p \leq 0,05$.

4.5.1. Vztah zánětlivé reakce, aktivace endotelu a klinického stavu pacienta

V tab. č. 14 jsou shrnuty výsledky vzájemné korelace skórovacích systémů SAPS II, APACHE II, SOFA a vyšetřených koncentrací proteinů akutní fáze, koncentrací vyšetřených cytoadhezivních molekul a interleukinu 6.

Tabulka č. 14: Vztah klinických skórovacích systémů a koncentrace proteinů akutní fáze, interleukinů a cytoadhezivních molekul

	SOFA	SAPS II	APACHE II
CRP	0,3156	0,1055	0,3113
	p = 0,001	p = 0,268	p = 0,001
Transferin	-0,5427	-0,3847	-0,5538
	p = 0,000	p = 0,000	p = 0,000
Prealbumin	-0,2994	-0,2197	-0,3316
	p = 0,001	p = 0,020	p = 0,000
Alfa-1-antitrypsin	0,0691	-0,1194	-0,0268
	p = 0,469	p = 0,210	p = 0,779
Oroso	-0,0449	-0,1782	-0,0732
	p = 0,639	p = 0,060	p = 0,443
IL-6	0,2121	0,3858	0,3946
	p = 0,030	p = 0,000	p = 0,000
sP-selektin	0,0596	0,0524	-0,0268
	p = 0,546	p = 0,595	p = 0,786
sE-selektin	0,3459	0,2316	0,0695
	p = 0,000	p = 0,017	p = 0,481
sICAM-1	0,289	0,2531	0,1823
	p = 0,003	p = 0,009	p = 0,063

Hodnoty korelačního koeficientu (*r*) s uvedením hodnoty statistické významnosti (*p*); červeně vyznačeny statisticky významné korelace $p \leq 0,05$.

5. Diskuze

V uvedené studii byla sledována dynamika změn markerů zánětlivé a koagulační odpovědi u pacientů se závažnou sepsí v průběhu patnácti dnů od přijetí na JIP.

Zatím byly známy převážně jen změny, ke kterým dochází v tzv. „časné“ fázi odpovědi organismu na sepsi, tj. v prvních 3 dnech (71) nebo maximálně po dobu 7 dnů (7). Podobný průběh změn zánětlivé reakce a koagulace jako ve výše uvedených studiích byl zaznamenán v 1. týdnu i u našich pacientů. Maximální zánětlivá (zvýšená koncentrace IL-6, alfa-1-antitrypsinu, CRP) a prokoagulační odpověď (zvýšené koncentrace F 1+2 fragmentů a D-dimeru) byla nalezena v prvních 3 dnech, tedy v počáteční fázi sepse. Dále již koncentrace většiny pozitivních proteinů akutní fáze klesá, se signifikantním rozdílem 12. a 15. den proti počátečním hodnotám. Přesto i 15. den byly koncentrace těchto proměnných vyšší, než byla norma laboratoře. Zatímco CRP reaguje na probíhající zánět velmi rychle, extrémně vysoké hodnoty jsou již prvý den hospitalizace pacienta na JIP a poté rychle klesají až do 15. dne, orosomukoid odpovídá na zánětlivý proces velmi pozvolným nárůstem (změna však ani nedosahuje statisticky významných hodnot) a maxima dosáhne teprve 9. den. Spolu s tím jsme na druhé straně zaznamenali i opačný průběh změny koncentrace negativních proteinů akutní fáze transferinu a prealbuminu, což svědčí o počátečním katabolismu (72, 73), který se pozvolna vyrovnával ke konci sledovaného období. Pozorovaná počáteční nízká aktivita přirozených inhibitorů koagulace (AT and PC) je typickým nálezem pro sepsi a byla pozorovaná i ve studii „PROWESS“ (7).

Co se týká profylaxe HŽT, je u pacientů se sepsí doporučováno subkutánní podávání nefrakcionovaných heparinů nebo lépe nízkomolekulárních heparinů (44). LMWH díky svým farmakokinetickým a farmakodynamickým vlastnostem mají lépe předvídatelný efekt než UFH, a proto rutinní monitorace jejich antikoagulačního účinku není všeobecně

doporučována (46). Výsledky klinických studií však prokázaly, že účinné profylaxe HŽT při septických stavech je možné docílit jen velmi obtížně (51, 53-56, 59, 72). V naší studii s nemocnými se závažnou sepsí vedla doporučená profylaktická dávka enoxaparinu 40mg k dosažení žádaného rozmezí (0,2–0,4 IU/ml anti F Xa) také jen ve 20 % případů.

I přes to, že je profylaktické rozmezí inhibice F Xa 0,2-0,4 IU/ml často používáno, jsme si vědomi, že toto rozmezí může být do jisté míry kontroverzní vzhledem ke skutečnosti, že nebylo nikdy ověřeno ve větších studiích. Z tohoto důvodu jsme porovnali výsledky měření inhibicí F Xa u septických pacientů s výsledky dosažených hodnot inhibice F Xa po stejné dávce enoxaparinu 40 mg s.c. v jiné skupině pacientů s vysokým rizikem vzniku HŽT (neseptičtí pacienti po operaci zlomeniny horního konce kosti stehenní) ($n = 16$). Stanovení inhibice F Xa bylo provedeno stejnou metodou jako u septických pacientů, tedy s použitím chromogenní reagentie Coamatic Heparin (Chromogenix Instrumentation Laboratory S.p.A., Milano, Itálie). Průměrné hodnoty inhibice F Xa u neseptických pacientů po operaci zlomeniny horního konce stehenní kosti byly: 0,38 IU/ml (\pm SD 0,16) druhý pooperační den; 0,4 IU/ml (\pm SD 0,14) sedmý pooperační den. Inhibice F Xa po aplikaci stejné dávky enoxaparinu s.c. jsou tedy u septických pacientů signifikantně nižší ($p < 0,05$) ve srovnání se skupinou neseptických pacientů (srovnán 2. den u septických pacientů s 2. pooperačním dnem kontrolní skupiny, 6. den u septických pacientů se sedmým pooperačním dnem).

Kolísání inhibice F Xa u pacientů se sepsí je možné přičíst kontinuální, zánětem indukované, protrombotické stimulaci, která není kompenzována doporučenou dávkou LMWH. Může za to i nižší aktivita AT (53), která byla pozorována i v naší studii. Tuto závislost potvrzuje i nalezená pozitivní korelace mezi aktivitou AT a inhibicí F Xa. Snížená aktivita AT ($< 70 \%$) je asociována s nedostatečnou inhibicí F Xa (průměr 0,12 IU/ml), naproti tomu ve skupině s normální aktivitou AT byla dosažena průměrná inhibice F Xa 0,24 IU/ml, tedy v požadovaném profylaktickém rozmezí.

V naší studii však byla zjištěna korelace i mezi inhibicí F Xa a aktivitou přirozeného inhibitoru koagulace PC. Tato pozitivní korelace mezi aktivitou proteinu C a hladinou enoxaparinu, která je vyjádřena jako míra inhibice F Xa, může být vysvětlena protektivním vlivem LMWH na konzumpci přirozeného inhibitoru koagulace proteinu C.

Protože biologickou dostupnost heparinu může částečně ovlivňovat též jeho vazba na plazmatické proteiny, jak to již bylo prokázáno u proteinů akutní fáze orosomukoidu a alfa-1-antitrypsinu (57), lze předpokládat, že k podobnému jevu může docházet i u LMWH, který je vyráběn frakcionací z UFH (46). Takto tomu může být zejména u pacientů se sepsí, kteří při zánětlivé reakci mají hladiny těchto proteinů akutní fáze zvýšeny. V naší studii byla nalezena negativní korelace mezi výší inhibice F Xa a koncentrací alfa-1-antitrypsinu ($r = -0,33$; $p = 0,01$) ve skupině pacientů s hodnotami alfa-1-antitrypsinu $\geq 2,2$ g/l. Vliv dalšího proteinu akutní fáze orosomukoidu však v tomto směru použitými testy prokázán nebyl.

Dalším diskutovaným faktorem ovlivňujícím antikoagulační účinek LMWH je podávání vazopresorů, které vede k poklesu periferní perfúze tkání a možné nedostatečné absorpci podkožně aplikovaného léku. Tato hypotéza však v naší studii potvrzena nebyla.

Taktéž jsme se pokusili ověřit hypotézu, že snížená clearance kreatininu může způsobit bioakumulaci LMWH, a tak vést ke zvýšení inhibice F Xa ve vzorcích pacientů s renálním selháním. Nicméně jsme takovou korelaci mezi iniciační hladinou kreatininu a pozdějšími hodnotami inhibice F Xa nenašli.

Klinické skórovací systémy APACHE II, SAPS II skóre i skórovací systém pro hodnocení míry orgánového selhávání SOFA velmi úzce koreloval s řadou sledovaných zánětlivých i koagulačních parametrů. Nález pozitivní korelace mezi klinickým stavem pacienta a koagulačními testy INR, aPTT svědčí spíše o sklonu ke krvácení u pacientů s těžším průběhem. Avšak negativní korelace mezi SAPS II, APACHE II skóre a inhibitory koagulace poukazují zároveň na insuficientní inhibici koagulace u pacientů v těžkém klinickém stavu.

Limitace studie

Tato studie má své limitace. Vliv enoxaparinu byl monitorován prostřednictvím vyšetření inhibice F Xa, nebyl tedy systematicky sledován vlastní klinický efekt enoxaparinu, tj. ovlivnění frekvence výskytu tromboembolických nebo krvácivých komplikací. Míra inhibice F Xa je markerem aktivity LMWH, který může, ale nemusí vždy zcela přesně odrážet skutečný klinický efekt (74-76), zejména proto, že LMWH ovlivňuje hemostázu i jinými mechanismy, například regulací aktivity TFPI (46).

Měření inhibice pomocí testu Coamatic kit ® umožnilo detekovat, že nízká aktivita antitrombinu přispívá k nízké inhibici F Xa. Na druhou stranu, pro ověření hypotézy, že aktivita enoxaparinu může být snížena v důsledku nespecifické vazby na plazmatické proteiny, by bylo vhodnější použít jiné reagentie obsahující exogenní antitrombin. Tyto reagentie eliminují vliv aktivity antitrombinu v pacientově plazmě, který míru inhibice F Xa značně ovlivňuje.

Výsledky jsou hodnoceny pouze u nízkého počtu pacientů – jen 50 % z původního počtu všech zařazených. Toto číslo odpovídá vysoké úmrtnosti na závažnou sepsi.

6. Závěr

Tato studie byla zaměřena na sledování změn parametrů zánětlivé reakce akutní fáze spolu se známkami zánětlivé dysfunkce endotelu a markerů hemostázy u pacientů se závažnou sepsí. Současně byla vyhodnocena dosahovaná výše inhibice F Xa při doporučené antitrombotické profylaxi nízkomolekulárním heparinem.

Prvým cílem této práce bylo zaznamenat dynamiku změn hemostázy ve vztahu k zánětlivé reakci organismu v průběhu závažné sepse. A to nejen v její počáteční fázi, ale zejména i v dalším průběhu, tedy v tzv. pozdní fázi. Náš výzkum byl ojedinělý právě délkou doby sledování pacientů - 15 dnů, všechny dříve publikované podobně zaměřené studie měly dobu sledování kratší. V souladu s publikovanými daty jiných autorů jsme v počáteční fázi zaznamenali extrémní prozánětlivou a protrombotickou odpověď se zvýšením pozitivních proteinů akutní fáze, nárůstem markerů hyperkoagulace – generace trombinu (F 1+2 fragmentů protrombinu), D-dimerů a hladiny fibrinogenu. Tyto změny byly naopak doprovázeny poklesem negativních proteinů akutní fáze a deplecí přirozených inhibitorů koagulace – antitrombinu a proteinu C. V dalším průběhu sepse se hodnoty většiny parametrů postupně přibližovaly k normě laboratoře, avšak i 15. den nebyly ještě zcela normalizovány. Obecně pak zjištěné laboratorní nálezy u nemocných se sepsí dokumentovaly souvislost mezi změnami hemostázy (druhotnou trombofilií) a aktivitou zánětlivé odpovědi.

Taktéž jsme se zaměřili na laboratorní sledování účinnosti podávané profylaxe tromboembolické nemoci u nemocných se sepsí. Dle námi zjištěných výsledků však profylaxe běžně doporučenými dávkami enoxaparinu 40 mg s.c. 1x denně nevedla u pacientů se závažnou sepsí v 80 % případech k dosažení požadované výše profylaktické inhibice F Xa (tj. dosažení inhibice v rozmezí 0,2–0,4 anti F Xa IU/ml), zejména v časně fázi sepse. To by mohlo být jedním

z důvodů, proč doporučené podávání LMWH v profylaktických dávkách nemusí vést u nemocných se sepsí k úspěšnému snížení výskytu tromboembolických epizod, jako je tomu u dalších skupin nemocných, například při profylaxi pooperačních tromboembolií. Podle SPC (souhrn údajů o léku) nízkomolekulárních heparinů se nemusí účinnost podávaných nízkomolekulárních heparinů (na rozdíl od nefrakcionovaného heparinu i.v. nebo warfarinu) laboratorně monitorovat. To je také považováno za jednu z hlavních výhod nízkomolekulárních heparinů proti jiným antitrombotikům. Naše výsledky by však v tomto případě u pacientů se sepsí svědčily spíše pro průběžnou laboratorní monitoraci efektu podávaných LMWH a eventuální adjustaci jejich dávkování tak, aby bylo dosaženo cílové profylaktické inhibice faktoru Xa. Tuto strategii monitorované profylaxe s LMWH u nemocných se sepsí by však bylo třeba ještě ověřit v klinické studii na větším vzorku pacientů.

Dosažené výsledky rovněž naznačují, že nedostatečný účinek profylaktických dávek enoxaparinu souvisí i s variabilní dostupností přirozeného inhibitoru koagulace antitrombinu. Ten ovlivňuje vlastní antitrombotickou aktivitu LMWH. Pro tuto hypotézu by svědčil nález pozitivní korelace mezi hladinou antitrombinu a výší inhibice faktoru Xa. To pak v léčebném režimu nemocných se sepsí otevírá otázku vhodnosti monitorace koncentrace antitrombinu a jeho případné substituce, pokud se zjistí jeho deficit. Užití nových antitrombotik, přímých inhibitorů trombinu (například dabigatran etexilat) nebo F Xa (rivaroxaban, apixaban), která by ke svému efektu nepotřebovala antitrombin, není zatím k profylaxi tromboembolické nemoci při sepsí povoleno. Na závalu by zde bylo i to, že zatím není známo jejich antidotum v případě předávkování.

7. Seznam použité literatury

1. BARON, R. M., M. J. BARON a M. A. PERRELLA. Pathobiology of sepsis: are we still asking the same questions? *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2006, **34** (2), 129-134. ISSN 1044-1549.
2. ANGUS, D. C., W. T. LINDE-ZWIRBLE, J. LIDICKER, G. CLERMONT, J. CARCILLO a M. R. PINSKY. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001, **29** (7), 1303-1310. ISSN 0090-3493.
3. SLADE, E., P. S. TAMBER a J. L. VINCENT. The Surviving Sepsis Campaign: raising awareness to reduce mortality. *Crit Care.* 2003, **7** (1), 1-2. ISSN 1364-8535.
4. BRUN-BUISSON, C., P. MESHAKA, P. PINTON a B. VALLET. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med.* 2004, **30** (4), 580-588. ISSN 0342-4642.
5. MARTIN, G. S., D. M. MANNINO, S. EATON a M. MOSS. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *Engl J Med.* 2003, **348** (16), 1546-1554. ISSN 1533-4406.
6. ANNANE, D., P. AEGERTER, M. C. JARS-GUINCESTRE a B. GUIDET. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003, **168** (2), 165-172. ISSN 1073-449X.
7. KINASEWITZ, G. T., S. B. YAN, B. BASSON, P. COMP, J. A. RUSSELL, A. CARIOU, S. L. UM, B. UTTERBACK, P. F. LATERRE a J. F. DHAINAUT. Universal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative micro-organism [ISRCTN74215569]. *Crit Care.* 2004, **8** (2), R82-90. ISSN 1466-609X.
8. SVOBODA, P., I. KANTOROVÁ, D. ŘEHOŘKOVÁ a P. SCHEER. *Sepse v traumatologii a chirurgii*. Praha: TRITON s.r.o., 2004. ISBN 80-7254-550-7.

9. YU, D. T., E. BLACK, K. E. SANDS, J. S. SCHWARTZ, P. L. HIBBERD, P. S. GRAMAN, P. N. LANKEN, K. L. KAHN, D. R. SNYDMAN, J. PARSONNET, R. MOORE, R. PLATT a D. W. BATES. Severe sepsis: variation in resource and therapeutic modality use among academic centers. *Critical care (London, England)*. 2003, **7** (3), R24-34. ISSN 1364-8535.
10. BONE, R. C., R. A. BALK, F. B. CERRA, R. P. DELLINGER, A. M. FEIN, W. A. KNAUS, R. M. SCHEIN a W. J. SIBBALD. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. 1992, **101** (6), 1644-1655. ISSN 0012-3692.
11. LEVY, M. M., M. P. FINK, J. C. MARSHALL, E. ABRAHAM, D. ANGUS, D. COOK, J. COHEN, S. M. OPAL, J. L. VINCENT a G. RAMSAY. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003, **31** (4), 1250-1256. ISSN 0090-3493.
12. VINCENT, J. L. Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you. *Crit Care Med*. 1997, **25** (2), 372-374. ISSN 0090-3493.
13. VINCENT, J. L., R. MORENO, J. TAKALA, S. WILLATTS, A. DE MENDONCA, H. BRUINING, C. K. REINHART, P. M. SUTER a L. G. THIJIS. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med*. 1996, **22** (7), 707-710. ISSN 0342-4642.
14. EVANS, T. J. The role of macrophages in septic shock. *Immunobiology*. 1996, **195** (4-5), 655-659. ISSN 0171-2985.
15. WARREN, H. S. Strategies for the treatment of sepsis. *N Engl J Med*. 1997, **336** (13), 952-953. ISSN 0028-4793.
16. UNDERHILL, D. M. a A. OZINSKY. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Curr Opin Immunol*. 2002, **14** (1), 103-110. ISSN 0952-7915.
17. BUCHHOLZ, B. M. a A. J. BAUER. Membrane TLR signaling mechanisms in the gastrointestinal tract during sepsis. *Neurogastroenterol Motil*. **22** (3), 232-245. ISSN 1365-2982.
18. READ, R. C. a D. H. WYLLIE. Toll receptors and sepsis. *Curr Opin Crit Care*. 2001, **7** (5), 371-375. ISSN 1070-5295.

19. ZINGARELLI, B., M. SHEEHAN a H. R. WONG. Nuclear factor-kappaB as a therapeutic target in critical care medicine. *Crit Care Med.* 2003, **31** (1 Suppl), S105-111. ISSN 0090-3493.
20. ZÁVADA, J. *Syndrom multiorgánové dysfunkce*. Praha: Grada Publishing, spol. s.r.o., 2001. ISBN 80-7169-781-8.
21. BONE, R. C. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med.* 1996, **24** (7), 1125-1128. ISSN 0090-3493.
22. BONE, R. C. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Annals of internal medicine.* 1996, **125** (8), 680-687. ISSN 0003-4819.
23. LEVI, M., H. TEN CATE a T. VAN DER POLL. Endothelium: interface between coagulation and inflammation. *Crit Care Med.* 2002, **30** (5 Suppl), S220-224. ISSN 0090-3493.
24. AIT-OUFELLA, H., E. MAURY, S. LEHOUX, B. GUIDET a G. OFFENSTADT. The endothelium: physiological functions and role in microcirculatory failure during severe sepsis. *Intensive Care Med.* **36** (8), 1286-1298. ISSN 1432-1238.
25. KVASNIČKA, J. *Trombofilie a trombotické stavy v klinické praxi*. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-7169-993-4.
26. CAMERER, E., A. B. KOLSTO a H. PRYDZ. Cell biology of tissue factor, the principal initiator of blood coagulation. *Thrombosis research.* 1996, **81** (1), 1-41. ISSN 0049-3848.
27. TEN CATE, H., K. A. BAUER, M. LEVI, T. S. EDGINGTON, R. D. SUBLETT, S. BARZEGAR, B. L. KASS a R. D. ROSENBERG. The activation of factor X and prothrombin by recombinant factor VIIa in vivo is mediated by tissue factor. *J Clin Invest.* 1993, **92** (3), 1207-1212. ISSN 0021-9738.
28. GABAY, C. a I. KUSHNER. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.* 1999, **340** (6), 448-454. ISSN 0028-4793.
29. TAYLOR, F. B., JR., B. DAHLBACK, A. C. CHANG, M. S. LOCKHART, K. HATANAKA, G. PEER a C. T. ESMON. Role of free protein S and C4b binding protein in regulating the coagulant response to Escherichia coli. *Blood.* 1995, **86** (7), 2642-2652. ISSN 0006-4971.

30. FAUST, S. N., M. LEVIN, O. B. HARRISON, R. D. GOLDIN, M. S. LOCKHART, S. KONDAVEETI, Z. LASZIK, C. T. ESMON a R. S. HEYDERMAN. Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis. *N Engl J Med.* 2001, **345** (6), 408-416. ISSN 0028-4793.
31. BIEMOND, B. J., M. LEVI, H. TEN CATE, T. VAN DER POLL, H. R. BULLER, C. E. HACK a J. W. TEN CATE. Plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor I release during experimental endotoxaemia in chimpanzees: effect of interventions in the cytokine and coagulation cascades. *Clin Sci (Lond).* 1995, **88** (5), 587-594. ISSN 0143-5221.
32. LEVI, M. The coagulant response in sepsis and inflammation. *Hamostaseologie.* **30** (1), 10-12, 14-16. ISSN 0720-9355.
33. CAMERER, E., W. HUANG a S. R. COUGHLIN. Tissue factor- and factor X-dependent activation of protease-activated receptor 2 by factor VIIa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000, **97** (10), 5255-5260. ISSN 0027-8424.
34. JOHNSON, K., Y. CHOI, E. DEGROOT, I. SAMUELS, A. CREASEY a L. AARDEN. Potential mechanisms for a proinflammatory vascular cytokine response to coagulation activation. *J Immunol.* 1998, **160** (10), 5130-5135. ISSN 0022-1767.
35. KAHN, M. L., M. NAKANISHI-MATSUI, M. J. SHAPIRO, H. ISHIHARA a S. R. COUGHLIN. Protease-activated receptors 1 and 4 mediate activation of human platelets by thrombin. *J Clin Invest.* 1999, **103** (6), 879-887. ISSN 0021-9738.
36. HANCOCK, W. W., A. TSUCHIDA, H. HAU, N. M. THOMSON a H. H. SALEM. The anticoagulants protein C and protein S display potent antiinflammatory and immunosuppressive effects relevant to transplant biology and therapy. *Transplant Proc.* 1992, **24** (5), 2302-2303. ISSN 0041-1345.
37. BELCH, J. J., G. D. LOWE, A. G. WARD, C. D. FORBES a C. R. PRENTICE. Prevention of deep vein thrombosis in medical patients by low-dose heparin. *Scott Med J.* 1981, **26** (2), 115-117. ISSN 0036-9330.

38. SAMAMA, M. M., A. T. COHEN, J. Y. DARMON, L. DESJARDINS, A. ELDOR, C. JANBON, A. LEIZOROVICZ, H. NGUYEN, C. G. OLSSON, A. G. TURPIE a N. WEISSLINGER. A comparison of enoxaparin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. Prophylaxis in Medical Patients with Enoxaparin Study Group. *N Engl J Med.* 1999, **341** (11), 793-800. ISSN 0028-4793.
39. GARDLUND, B. Randomised, controlled trial of low-dose heparin for prevention of fatal pulmonary embolism in patients with infectious diseases. The Heparin Prophylaxis Study Group. *Lancet.* 1996, **347** (9012), 1357-1361. ISSN 0140-6736.
40. PINGLETON, S. K., R. C. BONE, W. W. PINGLETON a W. E. RUTH. Prevention of pulmonary emboli in a respiratory intensive care unit: efficacy of low-dose heparin. *Chest.* 1981, **79** (6), 647-650. ISSN 0012-3692.
41. HOLUB, M. Thromboembolic complications of sepsis: what is the incidence and pathophysiological mechanisms involved? *Thrombosis and haemostasis.* 2008, **99** (5), 801-802. ISSN 0340-6245.
42. SAMAMA, M. M. An epidemiologic study of risk factors for deep vein thrombosis in medical outpatients: the Sirius study. *Arch Intern Med.* 2000, **160** (22), 3415-3420. ISSN 0003-9926.
43. ALIKHAN, R., A. T. COHEN, S. COMBE, M. M. SAMAMA, L. DESJARDINS, A. ELDOR, C. JANBON, A. LEIZOROVICZ, C. G. OLSSON a A. G. TURPIE. Risk factors for venous thromboembolism in hospitalized patients with acute medical illness: analysis of the MEDENOX Study. *Arch Intern Med.* 2004, **164** (9), 963-968. ISSN 0003-9926.
44. DELLINGER, R. P., M. M. LEVY, J. M. CARLET, J. BION, M. M. PARKER, R. JAESCHKE, K. REINHART, D. C. ANGUS, C. BRUN-BUISSON, R. BEALE, T. CALANDRA, J. F. DHAINAUT, H. GERLACH, M. HARVEY, J. J. MARINI, J. MARSHALL, M. RANIERI, G. RAMSAY, J. SEVRANSKY, B. T. THOMPSON, S. TOWNSEND, J. S. VENDER, J. L. ZIMMERMAN a J. L. VINCENT. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med.* 2008, **36** (1), 296-327. ISSN 1530-0293.
45. GEERTS, W. H., D. BERGQVIST, G. F. PINEO, J. A. HEIT, C. M. SAMAMA, M. R. LASSEN a C. W. COLWELL. Prevention of venous thromboembolism: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest.* 2008, **133** (6 Suppl), 381S-453S. ISSN 0012-3692.

46. HIRSH, J. a R. RASCHKE. Heparin and low-molecular-weight heparin: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*. 2004, **126** (3 Suppl), 188S-203S. ISSN 0012-3692.
47. DEMPFLER, C. E. Coagulopathy of sepsis. *Thrombosis and haemostasis*. 2004, **91** (2), 213-224. ISSN 0340-6245.
48. CADE, J. F. High risk of the critically ill for venous thromboembolism. *Crit Care Med*. 1982, **10** (7), 448-450. ISSN 0090-3493.
49. HIRSCH, D. R., E. P. INGENITO a S. Z. GOLDHABER. Prevalence of deep venous thrombosis among patients in medical intensive care. *JAMA*. 1995, **274** (4), 335-337. ISSN 0098-7484.
50. CROWTHER, M. a W. LIM. Measuring the anticoagulant effect of low molecular weight heparins in the critically ill. *Crit Care*. 2006, **10** (4), 150. ISSN 1466-609X.
51. DORFFLER-MELLY, J., E. DE JONGE, A. C. PONT, J. MEIJERS, M. B. VROOM, H. R. BULLER a M. LEVI. Bioavailability of subcutaneous low-molecular-weight heparin to patients on vasopressors. *Lancet*. 2002, **359** (9309), 849-850. ISSN 0140-6736.
52. LEVI, M. Adequate thromboprophylaxis in critically ill patients. *Critical care (London, England)*. **14** (2), 142. ISSN 1466-609X.
53. JOCHBERGER, S., V. MAYR, G. LUCKNER, D. R. FRIES, A. J. MAYR, B. E. FRIESENECKER, I. LORENZ, W. R. HASIBEDER, H. ULMER, W. SCHOBERSBERGER a M. W. DUNSER. Antifactor Xa activity in critically ill patients receiving antithrombotic prophylaxis with standard dosages of certoparin: a prospective, clinical study. *Crit Care*. 2005, **9** (5), R541-548. ISSN 1466-609X.
54. PRIGLINGER, U., G. DELLE KARTH, A. GEPPERT, C. JOUKHADAR, S. GRAF, R. BERGER, M. HULSMANN, S. SPITZAUER, I. PABINGER a G. HEINZ. Prophylactic anticoagulation with enoxaparin: Is the subcutaneous route appropriate in the critically ill? *Crit Care Med*. 2003, **31** (5), 1405-1409. ISSN 0090-3493.
55. ROMMERS, M. K., N. VAN DER LELY, T. C. EGBERTS a P. M. VAN DEN BEMT. Anti-Xa activity after subcutaneous administration of dalteparin in ICU patients with and without subcutaneous oedema: a pilot study. *Crit Care*. 2006, **10** (3), R93. ISSN 1466-609X.

56. RUTHERFORD, E. J., W. G. SCHOOLER, E. SREDZIENSKI, J. E. ABRAMS a D. A. SKEETE. Optimal dose of enoxaparin in critically ill trauma and surgical patients. *J Trauma*. 2005, **58** (6), 1167-1170. ISSN 0022-5282.
57. YOUNG, E., M. PRINS, M. N. LEVINE a J. HIRSH. Heparin binding to plasma proteins, an important mechanism for heparin resistance. *Thromb Haemost*. 1992, **67** (6), 639-643. ISSN 0340-6245.
58. FRYDMAN, A. Low-molecular-weight heparins: an overview of their pharmacodynamics, pharmacokinetics and metabolism in humans. *Haemostasis*. 1996, **26** (Suppl 2), 24-38. ISSN 0301-0147.
59. NAGGE, J., M. CROWTHER a J. HIRSH. Is impaired renal function a contraindication to the use of low-molecular-weight heparin? *Arch Intern Med*. 2002, **162** (22), 2605-2609. ISSN 0003-9926.
60. GRUYS, E., M. J. TOUSSAINT, T. A. NIEWOLD a S. J. KOOPMANS. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2005, **6** (11), 1045-1056. ISSN 1673-1581.
61. RABBAT, C. G., D. J. COOK, M. A. CROWTHER, E. MCDONALD, F. CLARKE, M. O. MEADE, K. A. LEE a R. J. COOK. Dalteparin thromboprophylaxis for critically ill medical-surgical patients with renal insufficiency. *J Crit Care*. 2005, **20** (4), 357-363. ISSN 0883-9441.
62. DUHL, A. J., M. J. PAIDAS, S. H. URAL, W. BRANCH, H. CASELE, J. COX-GILL, S. L. HAMERSLEY, T. M. HYERS, V. KATZ, R. KUHLMANN, E. A. NUTESCU, J. A. THORP a J. L. ZEHNDER. Antithrombotic therapy and pregnancy: consensus report and recommendations for prevention and treatment of venous thromboembolism and adverse pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol*. 2007, **197** (5), 457 e451-421. ISSN 1097-6868.
63. DELLINGER, R. P., J. M. CARLET, H. MASUR, H. GERLACH, T. CALANDRA, J. COHEN, J. GEA-BANACLOCHE, D. KEH, J. C. MARSHALL, M. M. PARKER, G. RAMSAY, J. L. ZIMMERMAN, J. L. VINCENT a M. M. LEVY. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med*. 2004, **32** (3), 858-873. ISSN 0090-3493.
64. KNAUS, W. A., E. A. DRAPER, D. P. WAGNER a J. E. ZIMMERMAN. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985, **13** (10), 818-829. ISSN 0090-3493.
65. LE GALL, J. R., S. LEMESHOW a F. SAULNIER. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA*. 1993, **270** (24), 2957-2963. ISSN 0098-7489.

66. CLARK JR, L. C. a H. L. THOMPSON. Determination of Creatine and Creatinine in Urine. *Analytical Chemistry*. 1949, **21** (10), 1218-1221.
67. COCKCROFT, D. W. a M. H. GAULT. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976, **16** (1), 31-41. ISSN 0028-2766.
68. BLAND, J. M. a D. G. ALTMAN. Correlation, regression, and repeated data. *Bmj*. 1994, **308** (6933), 896. ISSN 0959-8138.
69. BLAND, J. M. a D. G. ALTMAN. Calculating correlation coefficients with repeated observations: Part 1 - Correlation within subjects. *BMJ*. 1995, **310** (6977), 446. ISSN 0959-8138.
70. TAYLOR, F. B., JR., C. H. TOH, W. K. HOOTS, H. WADA a M. LEVI. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost*. 2001, **86** (5), 1327-1330. ISSN 0340-6245.
71. XIAO, H., J. SIDDIQUI a D. G. REMICK. Mechanisms of mortality in early and late sepsis. *Infect Immun*. 2006, **74** (9), 5227-5235. ISSN 0019-9567.
72. BIOLO, G., G. TOIGO, B. CIOCCHI, R. SITULIN, F. ISCRA, A. GULLO a G. GUARNIERI. Metabolic response to injury and sepsis: changes in protein metabolism. *Nutrition*. 1997, **13** (9 Suppl), 52S-57S. ISSN 0899-9007.
73. BRIZA, J., K. KUDRNA, J. KVASNICKA, O. BUSTA a T. TRCA. Reakce akutní fáze u těžkých úrazů. *Sb Lek*. 2002, **103** (2), 193-202. ISSN 0036-5327.
74. DESJARDINS, L., L. BARA, F. BOUTITIE, M. M. SAMAMA, A. T. COHEN, S. COMBE, C. JANBON, A. LEIZOROVICZ, C. G. OLSSON a A. G. TURPIE. Correlation of plasma coagulation parameters with thromboprophylaxis, patient characteristics, and outcome in the MEDENOX study. *Arch Pathol Lab Med*. 2004, **128** (5), 519-526. ISSN 1543-2165.
75. FREEDMAN, M. D. A bioavailability study in the proposed patient population - with much more needed now. *Crit Care Med*. 2003, **31** (5), 1588-1589. ISSN 0090-3493.

76. LEVINE, M. N., A. PLANES, J. HIRSH, M. GOODYEAR, N. VOCHELLE a M. GENT. The relationship between anti-factor Xa level and clinical outcome in patients receiving enoxaparine low molecular weight heparin to prevent deep vein thrombosis after hip replacement. *Thromb Haemost.* 1989, **62** (3), 940-944. ISSN 0340-6245.

8. Seznam použitých zkratk

A1AT	alfa 1 antitrypsin
APACHE II	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation skóre
aPTT	aktivovaný parciální tromboplastinový čas
AT	antitrombin
BMI	body mass index
C4b BP	protein vázající C4b
CARS	syndrom kompenzatorní protizánětlivé odpovědi
CRP	C reaktivní protein
DIC	diseminovaná intravaskulární koagulace
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FiO ₂	frakční koncentrace kyslíku ve vdechovaném vzduchu
F VII	faktor VII
F VIII	faktor VIII
F Xa	aktivovaný faktor X
G ⁺	grampozitivní
G ⁻	gramnegativní
HCT	hematokrit
HGB	hemoglobin
HIT	heparinem indukovaná trombocytopenie
HŽT	hluboká žilní trombóza
IAA	průměrná hodnota pro opakovatelnost
IEA	průměrná hodnota pro reprodukovatelnost

IL	interleukin
IU	mezinárodní jednotka
INR	international normalised ratio
JIP	jednotka intenzivní péče
LMWH	nízkomolekulární heparin
MARS	syndrom smíšené zánětlivé odpovědi
ORM	orosomukoid
p	hladina statistické významnosti
PAI-1	inhibitor aktivátoru plazminogenu
PaO ₂	parciální tlak kyslíku
PAR	proteázami aktivované receptory
PC	protein C
PS	protein S
PE	plicní embolie
PLT	trombocyty
PREA	prealbumin
PT	protrombinový čas
r	průměr
RBC	erytrocyty
RF	rizikový faktor
SAPS II	New Simplified Acute Physiology Score
s.c.	subkutánní
SD	směrodatná odchylka
sICAM-1	intercelular adhesive molecule 1 v séru
SAPS	Simplified Acute Physiology Score

SIRS	syndrom systémové zánětlivé odpovědi
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment score
SPC	souhrn údajů o léku
TAFI	inhibitor fibrinolýzy indukovaný trombinem
TEN	tromboembolická nemoc
TF	tkáňový faktor
TFPI	inhibitor cesty tkáňového faktoru
TK	tlak krve
TLR	Toll-like receptory
TNF- α	tumor necrosis factor α
TRF	transferin
UFH	nefrakcionovaný heparin
USD	americký dolar
VFN	Všeobecná fakultní nemocnice
WBC	leukocyty